

**Les facteurs
de croissance vitaminiques du sol
Leurs relations avec les engrais et la culture
en pleine terre
de végétaux chlorophylliens**

THÈSE

présentée à la Faculté des Sciences
de l'Université de Berne pour obtenir le grade de docteur
par

Maurice-André Roulet

originaire de Mauborget (Vaud)

1950

IMPRIMERIE DES REMPARTS

Yverdon

**Les facteurs
de croissance vitaminiques du sol
Leurs relations avec les engrais et la culture
en pleine terre
de végétaux chlorophylliens**

THÈSE

présentée à la Faculté des Sciences
de l'Université de Berne pour obtenir le grade de docteur

par

Maurice-André Roulet

originaire de Mauborget (Vaud)

1950

IMPRIMERIE DES REMPARTS

Yverdon

**LES FACTEURS DE CROISSANCE VITAMINIQUES
DU SOL
LEURS RELATIONS AVEC
LES ENGRAIS ET LA CULTURE EN PLEINE TERRE
DE VÉGÉTAUX CHLOROPHYLLIENS**

THÈSE

présentée à la Faculté des Sciences
de l'Université de Berne pour obtenir le grade de docteur
par

MAURICE-ANDRÉ ROULET

originaire de Mauborget (Vaud)



Thèse acceptée par la Faculté des Sciences de l'Université de
Berne, sur la proposition de Monsieur le Professeur W.-H. Schopfer.

Berne, le 2 février 1950.

Le Doyen : sig. *F. E. Lehmann*

PREMIÈRE PARTIE

BREF EXPOSÉ SUR L'HISTOIRE DE NOS CONNAISSANCES RELATIVES A LA NUTRITION DE LA PLANTE

1. *Les Anciens*

Le problème de la nutrition des plantes et de l'amélioration foncière se posa dès que les peuplades primitives, changeant leur manière de vivre, se mirent à cultiver les végétaux pour se nourrir. L'instinct, l'observation et l'empirisme permirent de rapides progrès ; l'histoire mentionne l'existence de peuplades agricoles déjà très habiles à côté d'autres demeurant nomades. Les peuples du bassin méditerranéen plaçaient les travaux de la terre au rang de culte et l'esprit poétique y trouvait un sujet inépuisable. En Egypte, en Grèce et à Rome la technique agricole était très poussée, on se servait d'engrais et de machines¹. La nécessité de l'alternance des cultures était connue mais il est difficile de parler d'une méthode expérimentale raisonnée, même si les écrits des derniers siècles de l'époque grecque permettent de l'envisager.

¹ Pline l'Ancien, Cicéron, Virgile.

2. *L'Atrochimie*

BERNARD PALISSY (1563) résume en un livre les connaissances empiriques de son époque. Les essais faits jusqu'alors concernaient des engrais *organiques* ou leurs cendres*. On redonne au sol, sous la forme la plus directe (paille, ou excréments divers), ce qu'on lui a pris. Une exception est faite par GLAUBER (1650). Il pense que le « principe végétal » se trouve dans le salpêtre. GLAUBER propose une amélioration foncière par l'emploi de ce sel inorganique. Il utilise même un mélange de divers sels. Nous avons là un essai qui nous conduira à la notion d'engrais dits « complets »¹.

* Ce terme « cendre » peut prêter à confusion. Liebig dit encore en 1855 : « Die Exkremente der Thiere und Menschen stellen die Asche der im Leibe der Thiere und Menschen verbrannte Nahrung dar von Pflanzen die auf dem Felde geerntet wurden. »

¹ Browne — A Source Book of Agricultural Chemistry — Chronica Botanica — Vo. 8 No 1 1944 — Page 48.

GLAUBER ne fut pas suivi car l'humus (résidu de la décomposition des végétaux et animaux morts) retenait toute l'attention. On savait que la matière humique déterminait la fertilité du sol ; une théorie de l'humus était née de cette connaissance. Elle était fausse sous sa forme primitive mais contribua au développement de la physiologie végétale moderne. Il fallut la révolution chimique déterminée par Lavoisier pour que la chimie agricole devienne une science expérimentale.

3. La Révolution chimique

LAVOISIER (1743-1794) énonce une loi fondamentale « Rien ne se perd, rien ne se crée ». Par sa technique de l'analyse élémentaire par combustion dans l'oxygène et par l'emploi de la balance, il inaugure une méthode quantitative. Les savants en reconnaissent l'utilité ; ils abandonnent de plus en plus les spéculations pour se livrer à l'analyse. Ils recherchent dans la plante ce qu'elle a prélevé au sol.

Ainsi TH. DE SAUSSURE (1767-1845)¹, chimiste dont les travaux relèvent de la biochimie végétale, peut compléter ses études sur les échanges gazeux chez les plantes en appliquant les techniques de LAVOISIER (l'emploi des eudiomètres était plus ancien, en rapport direct avec les théories du phlogistique). L'étude des échanges gazeux avait prouvé que le carbone de la plante provient du CO₂ de l'air. Les analyses de DE SAUSSURE (1804) démontrèrent que les autres substances nécessaires à la plante et présentes dans ses cendres, sont issues du sol. DE SAUSSURE cherche à mieux comprendre le pouvoir absorbant de la racine. Il cultive des végétaux dans des milieux liquides dont il indique la constitution et il analyse au cours de toute la croissance le milieu et la plante qui y pousse.

La physiologie végétale moderne est née. Cette nouvelle discipline basée à la fois sur la chimie et la botanique trouvera ses applications en chimie agricole.

¹ de Saussure Th. — Recherches chimiques sur la végétation (1804).

4. La période moderne

Le retentissement des travaux de TH. DE SAUSSURE ne fut pas immédiat mais ces derniers servirent de base à de nombreuses recherches entreprises en France, en Allemagne et en Angleterre. La collaboration de la chimie et de la botanique permit de mieux comprendre la vie des plantes et de tirer des conclusions utiles à la pratique de l'amélioration foncière. Dans une œuvre classique BOUSSINGAULT rapporte qu'en séance de commission, on accepta

par 40 oui contre 3 non l'action du plâtre sur les prairies artificielles (1). BOUSSINGAULT (1802-1887) cite cet événement avec ironie car son plan de travail est conçu d'une manière logique et appuyé par des expériences menant droit au but. Il commence dans un domaine d'Alsace (Péchelbronn) des essais en pleine terre. D'année en année il cherche à améliorer le sol et mesure le rendement par le poids de matière végétale récoltée. Par des expériences très habilement conduites, il remarque l'effet épuisant des céréales et l'effet améliorant des légumineuses sur la teneur en azote du sol. Ces recherches lui permirent d'établir que l'azote est prélevé au sol sous forme de sels solubles dans la plupart des cas et que la fixation de l'azote de l'air est une exception ; c'est HELLRIEGEL (1831-1895) qui décrit les nodosités bactériennes responsables de cette dernière. Montrer que l'azote est prélevé au sol, c'était compléter les observations de DE SAUSSURE et supprimer un facteur d'incertitude. C'était une fois de plus démontrer l'importance du sol et des matières qui s'y trouvent. Cela conduisit BOUSSINGAULT à s'occuper des engrais. Il analyse en premier lieu les engrais les plus utiles, de provenance organique : fumier, résidus d'usine, déchets d'abattoirs. En second lieu il étudie les engrais qu'il appelle « de moindre valeur » : la marne et le plâtre, qu'on commence à introduire dans la pratique. Il soumet les engrais à l'analyse élémentaire et dose quantitativement tout ce que les méthodes de l'époque permettent de déceler. BOUSSINGAULT publie un tableau très complet intitulé « De la valeur comparée des engrais ». On y voit par exemple que tous les fumiers n'ont pas la même valeur fertilisante et qu'ils sont constitués différemment.

LIEBIG (1802-1873) inaugure par son « Patentdünger » la fumure inorganique. Il souligne pourtant que rien ne vaut les déchets organiques divers ou les excréments frais ; il sait que le guano, dont on vient de découvrir les dépôts, agit plus fortement que ses cendres.

Les recherches dans le sol font de grands progrès et la connaissance des substances minérales devient de plus en plus précise. Comme exemple citons SCHLÖSSING. Il donne en 1866 l'analyse d'un extrait de sol prélevé selon des techniques déterminées pouvant être reproduites (2).

Tableau 1
Analyse de solutions du sol.

Schlössing — 1866

SiO ₂	Acide nitrique	Acide carbonique	CaO
29,1	305	118	264
MgO	K ₂ O	Na ₂ O	Acide sulfurique
13,5	6,9	7,8	57,9
	Chlore	Subst. organiques	
	7,9	37,5	taux en mg par litre

Travaillant dans un laboratoire de physiologie végétale, JULIUS SACHS (1832-1897) met en évidence les besoins en minéraux des plantes vertes, à l'aide de la méthode synthétique ; il découvre une influence des éléments traces Fe et Mn. Il étudie le pouvoir absorbant des racines. Les lois générales qui règlent l'équilibre devant exister entre la plante et le sol, prévues par BOUSSINGAULT et LIEBIG, trouvent leur expression mathématique dans la loi du « Minimum » et la notion de « Facteur d'activité » énoncées par MITSCHERLICH (3). Les travaux de MITSCHERLICH et NEUBAUER conduisent à une généralisation des méthodes biologiques employant des organismes tests dans le but de reconnaître ce dont le sol a besoin et de le rendre fertile en lui ajoutant ce qui manque. Les méthodes biologiques seront de plus en plus utilisées ; elles permettront de résoudre bien des problèmes en complétant les travaux faits à l'aide d'analyses chimiques.

En 1938 on accepte définitivement l'action des éléments oligodynamiques sur la végétation (Zn, Mn, et surtout B) (4). A l'heure actuelle, la méthode d'analyse spectrographique de LUNDEGÄRDH permet de donner en quelques heures un aperçu complet des éléments inorganiques du sol et de la plante qui y croît (5).

Dans ce chapitre très général, il est nécessaire de citer les travaux contribuant à résoudre certains problèmes de chimie agricole. Ce sont ceux de PASTEUR, BEIJERINCK, KOCH et RAULIN puis de WINOGRADSKY(6). Les efforts de ces savants pour cultiver des micro-organismes en milieu synthétique permirent d'étudier les phénomènes du métabolisme dans un milieu moins complexe, mieux

contrôlable et d'apprendre à connaître une multitude de micro-organismes dans le sol ; c'est en effet à partir de ce dernier qu'on isole beaucoup de micro-organismes qui, aujourd'hui encore sont l'objet d'études approfondies, aussi bien dans le domaine des vitamines que dans celui des antibiotiques. La découverte du Bios sera utile à l'agronomie. WILDIERS décrit en 1901 l'action de ce groupe complexe de substances organiques actives en dose infime. Il est évident que le Bios agit en milieu naturel également.

- 1) Boussingault. — Economie rurale. Béchet- Jeune 2me édition. Tome II, p. 32 (1851).
- 2) Russel J. Sir. — Boden und Pflanze. Steinkopf, Dresden und Leipzig. p. 336 (1936).
- 3) Mitscherlich E.-A. — Das Gesetz des Minimums und das Gesetz des abnehmenden Bodenertrages. Landwirtsch. Jahrbuch (1919), 38 537-552.
- 4) Bertrand G. — Les engrais complémentaires. Kongress für angew. Chem. Berlin (1903), III, 839-840.
- 5) Mitchell R.L. — Spectrographic Analysis of Plants and Soils. Biological Review, Cambridge. (1947), 22, 1.
- 6) Winogradski S. — Etudes sur la microbiologie du sol. Ann. Inst. Pasteur (1925), 39, 299-354.

5. Les Problèmes

a) Les constituants inorganiques du sol.

Depuis LIEBIG (1), (2), les méthodes d'analyse chimique se développent, on découvre dans la solution du sol et dans les cendres de la plante, des éléments nouveaux. Aujourd'hui, des 92 éléments connus, 70 peuvent être décelés à l'aide de la spectrographie qualitative ou quantitative, pour citer la méthode la plus moderne. (LUNDEGÆRDH 1934) (3).

La détection des éléments minéraux dans le sol représente une première étape ; que sait-on du rôle de ces éléments dans le métabolisme de la plante ? G. BERTRAND (4) cite en 1939 vingt-trois éléments dont il y a quelque raison d'admettre le rôle physiologique et six dont le rôle physiologique n'est pas établi, du moins pour le moment. D'autres éléments ont été décelés chez quelques végétaux, on ne sait rien d'eux. On parle des éléments reconnus comme plastiques (C, O, H, N, S, P, K, Mg, Ca, Fe) et des éléments traces oligodynamiques (Zn, Mn, Bo, Fl, I, Cu, Al) dont la présence est indispensable dans le milieu pour que la végétation prospère normalement. Cette liste de symboles chimiques ne suffit pourtant pas à nous renseigner sur les besoins nutritifs de la plante ; nous devons connaître la forme sous laquelle les éléments sont absorbés et utilisés. Les méthodes d'analyse qui viennent d'être décrites, doivent être complétées par des méthodes biologiques telles qu'elles furent pratiquées par SACHS et KNOPP en laboratoire ou par MITSCHERLICH et NEUBAUER en agronomie

Ces expériences montrent que l'azote est absorbé sous forme de nitrate et d'ammoniaque, le phosphore sous forme d'acide phosphorique, etc. On connaît en effet l'état ionique du sol et l'on utilise le sel minéral qui dans les cultures en pleine terre, en pots ou en milieu liquide, donne le meilleur résultat. On tient compte aussi des antagonismes entre différents ions et l'on cherche à ne pas détruire l'équilibre indispensable. La méthode d'analyse chimique la plus raffinée explique imparfaitement ce qui se passe réellement ; elle transforme les solutions du sol et les constituants de la plante avant de pouvoir les déceler. La méthode analytique chimique doit être complétée par la méthode synthétique, biologique.

b) Les constituants organiques du sol

L'utilisation de certains sels minéraux par la plante est un fait unanimement accepté. Le sol n'est pourtant pas uniquement minéral. Il contient sous forme d'humus les substances organiques plus ou moins transformées par l'oxydation. Ces substances proviennent de la flore et de la faune qui y vivent. MULDER (1802-1880) analysa à l'aide de différentes méthodes chimiques, la fraction organique du sol. La question qui se pose est celle de savoir si ces molécules organiques peuvent retourner à la plante avant d'être complètement minéralisées et si elles ont un pouvoir nutritif propre. Ce problème n'est pas complètement résolu. On reconnaît à l'humus des qualités fertilisantes ; sa présence est indispensable, mais c'est pour ses qualités physiques que la plupart des agronomes l'estiment nécessaire. D'autres expériences par contre prouvent que l'humus participe à la nutrition de la plante.

Si l'on ajoute à un milieu synthétique, dans lequel vit une plante verte entière, un sucre ou un acide organique, celui-ci est absorbé et utilisé (LAURENT, MOLLIARD) (5). On accepte une participation des molécules organiques à la nutrition. Cette opinion n'est pas un retour à la théorie de l'humus, mais la conséquence d'expériences faites dans le but de déceler les « autres constituants actifs du fumier de ferme ». BOUSSINGAULT avait dit lui-même réserver l'étude de ces constituants pour plus tard, dans une page où il se plaignait de la difficulté rencontrée dans l'analyse du phosphore.

L'analyse inorganique fit rapidement de grands progrès. Il est certain que depuis LIEBIG les recherches sont trop exclusivement orientées vers les engrais minéraux. Cette tendance n'est pas justifiée. Le rendement des engrais minéraux complets ne doit pas faire oublier que pour la conservation du sol on doit tenir compte de tous les facteurs utiles.

Citons quelques travaux disséminés dans la littérature agricole depuis LIEBIG continuant à faire des allusions à une nutrition organique. En 1872, GRANDEAU (6) parle du rôle des matières

organiques dans les phénomènes de la nutrition des plantes. HÖVELER (7) en 1892, trouve que l'on a mal compris LIEBIG. Il écrit un article intitulé « Ueber die Verwertung des Humus bei der Ernährung der chlorophyllführenden Pflanzen ». J. DUMONT (8) communique à l'Académie des Sciences en 1897 un travail sur l'amélioration des terres humifères ; en 1904 il publie un mémoire sur les engrais humiques complets et en 1905 un autre sur la valeur agricole des matières humiques. Il attribue l'action favorable des engrais humiques aux composés phosphohumiques. THENARD communique en 1857 (9) des notes sur la matière riche du fumier de ferme. La question posée par PRINGSHEIM « Wuchsstoffe im Erdboden » (10) est étudiée ; de nombreux travaux prouvent que des facteurs de croissance très actifs sur les micro-organismes sont présents dans le sol. Ces facteurs de croissance (vitamines) ont peut-être une action sur la végétation ; ce problème est très actuel. Si l'action de ces substances pouvait être établie, nous aurions une preuve nouvelle de l'importance de la fraction organique du sol ; ces substances ne peuvent provenir que d'organismes vivants. Après les avoir synthétisées ou accumulées, ils les libèrent lors de l'humification.

Parmi les substances organiques décelées dans le sol citons : des acides humiques vrais, des matières lipoidiques, des tanins, la cellulose, l'hémicellulose, des sucres (polysaccharides), des acides uroniques, les acides organiques divers, des acides aminés : l'histidine, l'arginine, la cystéine, la lysine ; on trouve aussi des purines telles que l'adénine, la xanthine ainsi que la créatine ; on indique encore les cholestérols, du chrysène (substance fluorescente), *des facteurs de croissance pour micro-organismes (Vitamines)*, des antibiotiques, des hormones (auxines, hétéroauxines).

De nouvelles substances sont continuellement découvertes.

Ce problème central nous occupera au cours de notre travail. J'aimerais citer l'opinion qualifiée de C. A. BROWNE. Elle s'impose lorsqu'on met en parallèle les termes « théorie de l'humus » et nutrition organique la plante.

« Humus theory of plant nutrition : advocated by DAVY by MULDER, by THENARD, by WALERIUS ; opposed by LIEBIG, SPRENGEL, WIEGNER ; qualified opinion of BOUSSINGAULT, LAVOISIER, DE SAUSSURE.

c) Le milieu physique

La fertilité du sol dépend de l'équilibre de tous les éléments chimiques qui y sont représentés. La structure, la porosité, le rapport eau et sol doivent être optimaux. Ces caractéristiques sont modifiables et un apport d'humus, de plâtre ou de sable peut être favorable grâce au changement de structure qu'il provoque.

d) *Le milieu vital*

Etudier un sol en ne prenant en considération que ses qualités physico-chimiques serait vain. On sait le milieu très riche en micro-organismes agissant sur les constituants du sol et sur la végétation. A part leur rôle destructeur (ils minéralisent les déchets organiques et les rendent ainsi utilisables pour certains végétaux verts), ils participent à des symbioses et à des équilibres nécessaires à la fertilité du sol. Le sol a une activité biologique (11). Le retour au sol d'agents pathogènes pour l'homme et les animaux est compensé par l'action neutralisante d'autres organismes. Ce phénomène illustre bien l'équilibre dont nous parlons. Le sol n'est pas un réservoir de germes pathogènes. Ce sujet sort du cadre de notre travail (12).

La recherche moderne démontre de plus en plus que le sol est comparable à un « organisme vivant ». Dans des expériences faites par perfusion, QUASTEL (13) traite le sol comme un véritable « organe ».

Il est nécessaire, avant de se consacrer à l'étude des engrais, de se rendre compte qu'ils agissent sur une microflore et une microfaune très sensibles au milieu. Ces deux actions simultanées ne peuvent pas être séparées au cours du travail. Une expérience faite en pots ne peut être comparée à celle faite en plein sol. Ces deux terrains sont différents. L'un subit les fluctuations saisonnières, il a un passé et un avenir, l'autre est déjà artificiel.

e) *Les bilans*

«La terre est la source ou la matière d'où l'on tire la richesse. Le travail est la forme qui la produit et la richesse en elle-même n'est autre chose que la nourriture, les commodités et les agréments de la vie».

Richard Cantillon «Essai sur la nature du commerce en général». - 1755

La méthode pondérale introduite par LAVOISIER permet d'évaluer les recettes et les dépenses d'un organisme en rapport avec ses besoins nutritifs. Avant LAVOISIER la précision des instruments était insuffisante pour entreprendre des déterminations aussi délicates. La possibilité de « peser et de mesurer le métabolisme », donc de faire un bilan matériel, a servi plus que n'importe quelle théorie à faire progresser les recherches.

En agronomie, BERNARD PALISSY (1510-1589) fait une allusion à la nécessité de redonner aux champs ce que la végétation a prélevé et une expérience de physiologie végétale due à VAN HELMONT (1577-1644) est presque moderne dans sa forme. Les conclusions de VAN HELMONT sont inexactes mais le raisonnement incitant à l'expérience marque un progrès.

Les bilans biologiques conduisent à l'étude des cycles d'éléments dont on cherche à connaître le déterminisme.

COLBERT a précédé LAVOISIER et LIEBIG connaissait « L'Essai sur la population » de MALTHUS (1798). Il peut paraître curieux de faire intervenir dans cette introduction des allusions à l'évolution des théories générales de l'économie. Mais le climat créé par l'époque donna l'élan nécessaire aux recherches agronomiques et de leur côté l'agronomie et la physiologie végétale ne restèrent pas science de laboratoire. Etant donné l'importance économique des questions soulevées et le devoir des savants d'être utiles à la communauté, l'application pratique des résultats fut parfois hâtive et trop généralisée. Les troubles sociaux et les besoins politiques empêchèrent parfois une utilisation judicieuse des nouvelles méthodes scientifiques de culture. Les agronomes insistèrent sur l'importance nationale de leur découverte. Même LIEBIG constate avec plaisir que son engrais inorganique résoud le problème de l'amélioration foncière, qu'il empêchera les famines, les guerres et les révolutions, grâce à la sécurité économique qu'il assurera. C'était trop simplifier les choses ; mais ce que l'on peut retenir de ce raisonnement, c'est la nécessité d'établir un bilan. LIEBIG sait que la population augmente en progression géométrique alors que les ressources suivent une progression arithmétique (MALTHUS). Il a calculé que les réserves de guano (engrais organique) sur lesquelles on fondait un grand espoir, étaient limitées. D'autre part, l'utilisation des déchets organiques, dans un petit domaine, ne peut en aucun cas compenser les pertes en substances nutritives des champs cultivés. L'appauvrissement du sol ne peut être évité qu'en utilisant une autre source de matières fertilisantes et LIEBIG propose à cet effet l'emploi des engrais minéraux. La théorie de LIEBIG est logique. Il faut, dit-il, rendre aux champs *tout* ce que la végétation qui y pousse, que l'on récolte pour les besoins des hommes et des bêtes, a prélevé au sol. D'après l'état des connaissances chimiques d'alors*, on ne pouvait s'occuper que de l'azote, du phosphore etc., dont les méthodes d'analyse qui se perfectionnèrent progressivement, permettaient de suivre la disparition dans les champs cultivés. Les résultats décisifs obtenus par l'engrais complet firent oublier qu'à l'origine les engrais organiques naturels contenaient d'autres substances. On négligea, par la force des choses, tout une fraction pour insister sur une seule catégorie de substances fertilisantes.

Dans l'état actuel de nos connaissances, en accord avec la notion du bilan matériel qui reste la base de toute recherche,

* On lira avec profit le livre de M.-E. Chevreul « Considérations générales sur l'analyse organique et sur ses applications » — Paris, Levrault, édit. — 1824 — L'auteur y développe des considérations générales basées sur des systèmes philosophiques et sur l'histoire des sciences.

nous pouvons affirmer que l'adjonction au sol de sels minéraux et de substances organiques essentielles et assimilables, servira au remplacement des substances prélevées par la végétation (14), (15).

Les résultats obtenus par l'interprétation des bilans matériels ont été concrétisés par MITSCHERLICH qui énonça la loi du minimum et celle du facteur d'activité (16).

Le problème qui se pose aujourd'hui n'est plus d'établir le bilan matériel à lui seul. On se demande si l'effet de substances actives en petites quantités permet une meilleure utilisation des réserves du sol, en d'autres termes, si de ce fait, la plante vit plus économiquement.

Cette question a naturellement une valeur pratique indiscutable.

f) *La fonction de la racine*

Une plante saine forme dans la terre un réseau de racines très dense. Hors de son milieu, en culture d'organes, la racine ne reçoit plus les produits élaborés dans les feuilles (17). Le milieu liquide doit contenir un *sucré*, des sels minéraux ; certaines racines sont même très sensibles aux vitamines (racines de tomate et vitamine B₁, par exemple) (18). Le pouvoir absorbant de la racine ne cesse d'étonner. Il est variable et sélectif mais la plante absorbe parfois par sa racine des sels ou d'autres substances dont l'utilité n'apparaît pas. DE SAUSSURE le remarqua déjà dans ses travaux.

Un autre phénomène très important est celui de la sécrétion par la racine. Les premières expériences datent de H. BOERHAAVE (1668-1783). Sur la base de ces dernières A. P. DE CANDOLLE émet une théorie erronée (1778-1841) alors que MACAIRE (1833) (19) fait une expérience qui semblait décisive à l'époque. SACHS (1832-1897) étudie des effets de corrosion de la racine sur des pierres. Dans un autre domaine on connaît bien l'existence de pierres corrodées par des Algues bleues.

Une sécrétion de substances toxiques non spécifiques agissant sur la racine a été démontrée en culture stérile par M. MOLLIARD (20). Les expériences d'une finesse toute biologique de STILLE (1938) (21) et de THOM et H. HUMFELD (1932) (22), prouvent que les micro-organismes du sol se développent en plus grand nombre au contact des racines. Ils semblent profiter de certaines sécrétions sans que l'on puisse parler de symbiose ou de parasitisme.

Il est donc démontré, qu'à part son pouvoir absorbant la racine sécrète des substances très variées et même des ferments qui agissent sur le milieu où croît la plante (23). Ce phénomène est des plus intéressants car il permet de prévoir des transformations chimiques dirigées par l'organisme mais réalisées hors de lui. Il serait de grande importance de savoir si ces transformations

chimiques ne mettent en jeu que des dégradations ou s'il se produit des synthèses dues à des ferments sécrétés par la cellule vivante mais réalisées dans le milieu.

g) *Autotrophie et hétérotrophie*

L'étude moderne des besoins nutritifs des végétaux, qui débute avec DE SAUSSURE en 1804, mena de surprises en surprises. Les expériences faites avant LAVOISIER par mesures eudiométriques n'avaient éclairé qu'un côté du problème ; toutes les particularités du métabolisme végétal n'étaient pas connues. Il fallait établir quelle était la part exacte des constituants de l'atmosphère et celle des constituants du sol. Il était bien certain que la matière devait être prélevée à ces deux sources. Ils constituent ensemble le milieu du végétal.

Le développement chronologique * des quelques expériences fondamentales qui, depuis 1804, ont modifié nos conceptions sur la nutrition des végétaux, prouve que les progrès furent très lents.

L'observation sommaire avait fait comparer le métabolisme de la plante à celui de l'animal et de l'homme, conception purement anthropocentrique. La découverte de l'assimilation du carbone de l'air ouvrit une nouvelle voie. On montra qu'en opposition avec l'animal la plante chlorophyllienne couvre ses besoins en carbone par le CO_2 de l'air. On en déduit que seuls les éléments minéraux du sol ainsi que le CO_2 participent à la nutrition de la plante.

L'opposition apparente de deux types de métabolisme, animal et végétal, conduisit TYNDALL à émettre l'énoncé singulier et schématique : « Le végétal est produit par l'élévation d'un poids et l'animal par la chute de ce poids » accumulation d'énergie par la plante autotrophe, utilisation d'énergie par l'animal hétérotrophe.

Cette théorie dite dualiste, fut soutenue par DUMAS et BOUSSINGAULT (Essai sur la statique chimique des êtres vivants (1841). Elle fut l'œuvre du premier plutôt que du second. Elle empêcha de saisir l'unité des phénomènes de la vie dans les deux règnes qui fut si remarquablement mise en évidence par Cl. BERNARD (Leçons sur les phénomènes de la vie commune aux animaux et aux végétaux 1879).

BOUSSINGAULT pourtant vit clairement l'évolution d'un sol conduisant à la formation de matières organiques. Il décrivit les phénomènes constatés sur un éboulis de la Végia de Supia en Amérique méridionale. Observant la végétation qui se reforme sur des éboulis récents, il s'exprime comme suit : (Economie rurale, tome I, p. 570, 1851, 2^{me} édition).

« D'abord la végétation y réussit avec peine. Des plantes auxquelles leur complexion permet de vivre en grande partie aux

* Voir chapitres 1 à 4.

dépens de l'atmosphère et qui ne demandent, pour ainsi dire, à la terre qu'un appui, s'y fixeront si le climat est favorable, les cactus, les plantes grasses dans les sables, les mimosas, les prêles sur les graviers. Ces plantes laisseront après une chétive existence des débris utiles aux générations suivantes. La matière organique en s'accumulant avec le temps dans ces sols ingrats, les rendra de moins en moins stériles. »

Par ces quelques phrases, BOUSSINGAULT pose un problème qui nous préoccupe aujourd'hui encore. Les échanges de vue entre BOUSSINGAULT et son correspondant VON HUMBOLDT expriment des hypothèses dont l'exactitude fut démontrée peu à peu par l'expérience.

Il faut attendre quelques années pour que la théorie de la nutrition minérale des plantes ne soit plus acceptée avec la ferveur du début. La lecture, déjà citée, de la partie historique du travail de HÖVELER est à ce sujet des plus instructive.

C'est dans cette période, dès 1880, que l'on créa des termes moins définis, plus souples, tels que métabiose, mixotrophie, hétérotrophie, autotrophie, saprophytisme, épiphytisme, symbiose. On insiste sur les modes de nutrition variés des végétaux. Le terme autotrophe ou hétérotrophe exprime tout d'abord la possibilité ou non d'assimiler le carbone de l'air, mais les termes de métabiose et de mixophyte attestent que l'on trouve au sein du règne végétal des dépendances alimentaires plus subtiles. Tous les constituants de la matière organique qui retournent au sol jouent leur rôle. A un moment donné, la matière organique en décomposition y participe toujours. Actuellement nous ne considérons pas l'hétérotrophie par rapport au carbone uniquement. Le terme hétérotrophie dans son sens général s'applique au végétal qui a besoin pour l'élaboration de sa matière vivante de constituants préformés et provenant obligatoirement de l'activité vitale d'un organisme sur lequel il est fixé ou d'un organisme qui vécut avant lui dans le même milieu. Il est bien certain que l'hétérotrophie ainsi définie dépeint un mode de vie comparable à celui de l'animal alors que l'autotrophie type représente le mode d'une plante verte ne vivant qu'aux dépens de substances minérales. L'expérience et l'observation prouvent qu'une gradation entre l'hétérotrophie et l'autotrophie absolue doit être envisagée (24). Une série de très beaux travaux doivent être cités ici, ceux de FRANK (25) sur les mycorhizes, ceux de NOËL BERNARD (26) sur les tubérisations, celui de CAILLETET (27) qui mesure le bilan du carbone chez les plantes à photosynthèses insuffisantes (Fougères et Aspidistra), ceux de MOLLIARD (28) ainsi que ceux de MELIN (29).

La complexité des phénomènes a été clairement démontrée dans les manuels de SACHS et de PFEFFER (30), (31). SACHS compare les plantes en germination à des parasites et il dit :

«...In diesen Fällen sind es besonders organisierte Haustorien an den Blättern der Keimpflanzen, in vielen anderen Fällen,

besonders bei den Koniferen und manchen Dicotylen z. B. *Ricinus*, sind es die später zu normalen grünen Blättern entfalteten Cotyledonen, welche mit ihrer Oberfläche die Endospermstoffe aufsaugen und der Keimpflanze zuführen. Jedenfalls erscheint in allen solchen Fällen die Keimpflanze wie ein Schmarotzer, der mittels besonderer Organe seine Nahrung aus einem mit Reservestoffen erfüllten Pflanzenkörper, dem Endosperm, aufsaugt. »

SACHS souligne ainsi qu'une plante autotrophe passe au cours de son développement par une phase qui la rend en tous points comparable à des parasites non chlorophylliens. Il insiste sur ce phénomène très intéressant démontrant que l'organisme change son mode de vie et qu'il peut adapter son métabolisme.

PFEFFER écrit :

« Von der reinautotrophen zu der reinheterotrophen Ernährung gibt es eben alle Abstufungen und bei manchen Pflanzen wirken unter normalen Kulturverhältnissen beide Arten des Nahrungsgewinnes zusammen. »

Et plus loin :

« Uebrigens ist eine jede autotrophe Pflanze befähigt, ein gewisses Quantum von Stickstofffreier oder stickstoffhaltiger organischer Nahrung aufzunehmen und zu verarbeiten. »

Plus loin encore, dans un autre ordre d'idées :

« Jedoch dürfte es mit der Zeit gelingen, manche Pflanzen z. B. gewisse Algen, sowohl bei reinautotropher als auch bei reinheterotropher Ernährung zu erziehen. »

Citons pour terminer M. MOLLIARD qui en 1905 donne par artifice expérimental, donc morphologiquement, le caractère de saprophyte à une plante.

Les deux formes de vie étant possibles et le sol s'y prêtant, il reste à se demander quel est le mode le plus répandu dans la nature. Est-ce celui de l'autotrophie stricte ou celui selon lequel l'organisme profite de molécules organiques préformées ?

h) *Auxo-autotrophie et auxo-hétérotrophie*

Le manque d'éléments plastiques ou oligodynamiques dans le milieu provoque chez le micro-organisme un arrêt de croissance et chez la plante supérieure des symptômes de carence qui ont une répercussion sur la croissance et sur la morphologie de la plante. Ces symptômes permettent un diagnostic visuel (WALLACE) (32). Les troubles provoqués par les éléments plastiques ou oligodynamiques (éléments trace) sont semblables.

Les éléments oligodynamiques échappaient en général aux expériences qui établissent le bilan matériel. L'analyse en est plus délicate (33). Il fut un temps où ils restaient dans la rubrique des « éléments divers ». Ces éléments sont pourtant indispensables. Le manque de bore par exemple fut souvent tel dans les champs intensément cultivés, qu'il fallut en enrichir les engrais.

On peut généraliser. L'effet des éléments trace observé tout d'abord par RAULIN chez *Aspergillus Niger*, se retrouve chez les organismes plus différenciés.

Les recherches faites dans ce domaine avec des éléments marqués sont des plus instructives (34). On arrive à localiser plus ou moins facilement la place où l'élément est assimilé.

D'autres substances, agissant à dose très faible, sont nécessaires au fonctionnement de la matière vivante. Découvertes tout d'abord à l'aide de la Levure, elles constituèrent le Bios de WILDIERS (35) (36). Leur absence dans le milieu de culture des micro-organismes qui les exigent, provoque un arrêt du développement. On les désigne sous le terme général de « *Facteurs de croissance* ». Ces substances proviennent obligatoirement d'un organisme vivant qui les a synthétisées. Leur identité avec les vitamines dites animales fut très tôt entrevue. En 1934 (SCHOPFER) il fut démontré qu'une vitamine animale typique, la seule bien connue alors, la vitamine B₁ (Antipolynévritique) était le facteur de croissance indispensable, essentiel pour le champignon *Phycomyces blakesleeanae*. Dès ce moment, le facteur de croissance pour micro-organismes s'identifie avec la vitamine dite animale. Dès ce moment on peut envisager une vitaminologie générale basée sur quelques principes très simples : les facteurs vitaminiques sont présents dans toutes les cellules animales et végétales. Ils constituent généralement un fragment de coenzyme, ce qui explique leur mode d'action. Dans les deux règnes ils assument les mêmes fonctions. La plante verte, dans la règle, synthétise toute la constellation de facteurs de croissance dont elle a besoin. Par contre, la cellule animale a perdu tout ou partie de ce pouvoir de synthèse ; les facteurs vitaminiques doivent lui être offerts de l'extérieur. Un nombre appréciable de micro-organismes (Bactéries, Champignons, Flagellés, Protozoaires) ont, à l'instar des animaux supérieurs, perdu plus ou moins complètement ce pouvoir de synthèse.

Le développement et la multiplication de ces derniers organismes ne seront possibles qu'après adjonction à leur milieu des facteurs vitaminiques (anciens facteurs de croissance) qu'ils ne peuvent plus fabriquer. W. H. SCHOPFER a proposé de désigner par auxo-autotrophes, les organismes synthétisant leurs facteurs vitaminiques et par auxo-hétérotrophes ceux qui n'en sont pas capables. On voit donc que l'auxo-hétérotrophie qui nous intéresse tout spécialement, ne sera pas limitée à la cellule animale. Les modalités des pertes de pouvoir de synthèse ont été relatées en détails (W. H. SCHOPFER *Mitteilungen der Nat. Forsch. Gesellschaft* 1941 ; voir également *Plants and Vitamins* 1943).

Micro-organismes : La perte du pouvoir de synthèse chez un micro-organisme provoque une dépendance nouvelle. Le milieu devra contenir le facteur que l'organisme ne peut plus synthétiser. Si ce facteur manque, la croissance deviendra impossible.

Très souvent, le micro-organisme qui a perdu le pouvoir de synthèse réagit, dans certaines limites, quantitativement aux facteurs de croissance que l'on ajoute au milieu. Cette faculté est utilisée pour des tests, décrits dans la partie technique de ce travail.

Les végétaux supérieurs : Les végétaux verts représentent la source habituelle de vitamines pour l'homme et l'animal. Les végétaux cultivés doivent, pour être sains, contenir suffisamment de vitamines. Les premières recherches concernant les vitamines chez les plantes furent avant tout consacrées à leur localisation et à leur détermination quantitative. Des tableaux servent de référence pour le contrôle de la valeur alimentaire des produits (40).

On sait que les vitamines trouvées dans les cellules sont utilisées par la plante elle-même. On connaît pourtant plusieurs cas où la concentration très forte en vitamines de certains organes fait supposer que ces molécules peuvent être des produits d'excrétion ou de réserve. Dans un but utilitaire, on chercha à influencer de différentes manières le métabolisme de la plante. Des variations de concentration en vitamines ont été constatées et les différences observées prouvent que certaines conditions favorisent la synthèse ou l'accumulation de ces facteurs. On isola des races plus ou moins riches en vitamines, les méthodes classiques de la génétique furent parfois appliquées.

Pour le botaniste qui s'occupe de physiologie végétale, les différences sont expliquées par des variations du pouvoir de synthèse dépendant ou de l'espèce ou d'une influence du milieu. Il est probable que la composition du milieu a une répercussion sur la synthèse des vitamines dans la plante ou alors que les vitamines présentes dans le sol sont absorbées, utilisées ou simplement accumulées.

Une classification des expériences entreprises pour démontrer la valeur de ces hypothèses est difficile. Les recherches ne sont pas coordonnées. Les plantes utilisées sont diverses, les milieux varient beaucoup. Les buts proposés par les savants sont multiples.

On peut par exemple, s'attacher à mesurer l'évolution du taux en vitamines au cours de la germination (41). On étudie ici un stade particulier du cycle vital de la plante. Dans ce début de développement, la plante supérieure est dépendante des réserves préformées contenues dans l'endosperme et absorbées par les cotylédons.

Les expériences faites avec des plantes privées de cotylédons sont intéressantes en l'occurrence (42). Fréquemment la graine ne contient que peu de vitamines ; après la germination ces dernières sont présentes en taux élevés dans les cotylédons. Ce pouvoir de synthèse est-il total ou y a-t-il des précurseurs inactifs sur les tests biologiques, dont la transformation rapide a lieu pendant la germination ?

Une avitaminose typique compensée par une vitamine synthétique a été découverte chez certaines orchidées, au début de la

germination. Il y a là une véritable hypovitaminose qui empêche toute croissance. Dans la nature c'est grâce à une symbiose avec un champignon endotrophe que la plantule peut se développer (43) (44).

Dans d'autres expériences on étudie la biosynthèse chez la plante presque adulte : action de la vitamine ajoutée à l'eau d'arrosage, action des variations du milieu, des modifications du climat, de la composition du sol particulièrement des substances minérales sur le métabolisme en général et indirectement sur le métabolisme vitaminique.

Le sol, comme nous le montrerons, contient déjà des vitamines. Celles ajoutées avec l'eau d'arrosage ne font qu'augmenter les taux normaux.

Une fois absorbée, on retrouvera peut-être la trace de la vitamine ou bien cette dernière disparaîtra parce que métabolisée et transformée en substance inactive sur le test. Il peut même y avoir une accumulation de la vitamine exogène, sans qu'elle soit utilisée dans le métabolisme cellulaire et sans que l'on puisse constater un effet quelconque sur la plante.

Dans un champ cultivé où l'on récolte des plantes ayant vécu côte à côte, G. BERTRAND constate que chacune d'elles n'a pas prélevé au sol une même quantité d'éléments. La plante garde son individualité. C'est ainsi qu'il démontre que chaque plante n'absorbe pas le bore avec la même intensité, bien que la quantité mise à disposition soit identique. Il est probable que ce phénomène se retrouve lorsqu'il est question d'absorption des vitamines du sol (45).

Les vitamines, dont la biosynthèse aura été exaltée ou dont les molécules proviennent du milieu, auront éventuellement une action sur la morphologie de la plante ou sur sa croissance. Un symptôme typique d'avitaminose disparaîtra ou bien la plante tout entière deviendra plus forte. Il serait intéressant de rechercher si la vitamine présente dans le milieu où la plante vit ne permet pas une utilisation plus rationnelle et plus économique des réserves nutritives du sol. Ces recherches, qui n'ont pas encore été effectuées, devraient mettre en œuvre des analyses très précises, répétées et poursuivies dans le même champ au cours de plusieurs années. Il pourrait y avoir des différences selon que le sol fut traité par des engrais ne contenant que des substances minérales ou en plus une fraction organique.

Les signes morphologiques d'avitaminose n'ont pas été observés jusqu'à ce jour* ; l'effet de la vitamine, lorsqu'il put être décelé, se traduisit par une augmentation dans la concentration en vitamines des bourgeons et des feuilles, ou par l'exaltation de la crois-

* Pour l'action des vitamines sur la plante supérieure, voir la mise au point de J. et H. Bonner, *The B-Vitamins as Plant Hormons*, « *Vitamins and Hormons* » (1948), 6, 225.

sance générale de la plante ; on vit parfois une accélération de la floraison et une résistance meilleure à la sécheresse. Cette catégorie de travaux présente des contradictions explicables dont nous n'approfondirons pas les raisons. Historiquement ils ont pour base les travaux classiques de BOTTOMLEY sur les auximones (46) (47).

Si l'on peut mettre en évidence une action de la vitamine sur la croissance de la plante dans le milieu que l'on a choisi, on pourra dire que la vitamine agit comme un facteur limitant dans le sens de l'agronomie classique.

L'influence du milieu sur le métabolisme des vitamines est plus délicat à élucider. Il faut que les réserves du sol soient suffisantes pour permettre une croissance normale de la plante. Les plantes-contrôle ne sont en général pas égales à zéro. Ce sont surtout des différences dans l'équilibre des substances nutritives du milieu qui agissent, rapport azote-phosphore par exemple.

Une telle influence sur le métabolisme de l'aneurine fut observée par H. HURNI avec *Melandrium album* (48), plante étudiée en détails à l'Institut botanique de l'Université de Berne.

Pour répondre à certaines objections ARNON (49) démontre que le contenu en vitamines des plantes cultivées sur milieu liquide minéral est pareil à celui de la plante cultivée dans le sol. Leur valeur alimentaire n'est donc pas amoindrie par ce mode de culture plus moderne et moins usuel. Nous sommes bien certain que si la plante a pu croître et atteindre sa grandeur habituelle dans le milieu liquide strictement minéral, chaque cellule a pu se procurer, par synthèse propre, ses facteurs de croissance essentiels. Le problème se pose différemment pour des plantes plus exigeantes qui ne se contentent pas de milieu liquide à base minérale et que l'on ne cultive que dans le terrain.

Les expériences d'ARNON ne démontrent donc pas d'une façon définitive l'inactivité du milieu au sujet de la biosynthèse des vitamines. WOKES observe des variations saisonnières du taux en vitamines de la tomate. Il y a donc là aussi action du milieu.

Nous pouvons résumer : Il est évident que les recherches modernes ne peuvent plus suivre rigoureusement la voie de l'agronomie classique. Les bilans qui furent établis sont relativement grossiers si l'on songe aux possibilités données par les méthodes d'analyse actuelles. Bien qu'on utilise les engrais, la ressource du cultivateur reste l'alternance des cultures et la jachère. Sans songer à abandonner ces méthodes ancestrales, qui pour des périodes de production normale suffisent, on peut prévoir que grâce à la connaissance plus approfondie de la nutrition des plantes et du métabolisme des sols, on pourra composer des engrais mieux équilibrés. Les caractéristiques des sols fertiles ne s'expriment pas uniquement par le poids des plantes qu'ils produisent mais aussi par la fréquence avec laquelle on peut les cultiver sans provoquer d'épuisement irrémédiable. Ces caractéristiques optimales ne sont pas faciles à

reproduire par l'emploi d'engrais. L'étude complète du chimisme de la transformation progressive d'un sol désertique en sol fertile serait du plus haut intérêt.

L'agronomie classique s'occupe avant tout du complexe N.P.K. et de la constitution physique des sols. Il serait temps d'introduire dans la pratique les conceptions modernes relatives à la nutrition végétale telles que nous venons de les exposer. Ce point de vue est justifié si l'on se souvient que l'engrais minéral n'est jamais utilisé seul mais qu'il y a toujours un apport organique dû à l'humus qui se forme naturellement ou au fumier que l'on mène aux champs.

Documentation iconographique

1. Les méthodes de culture.

Les techniques utilisées dans les laboratoires pour mettre en évidence les besoins nutritifs des végétaux se sont modifiées au cours des années. Les reproductions suivantes sont destinées à démontrer combien les milieux utilisés peuvent varier et combien les conditions de culture peuvent être différentes quant à la stérilité bactériologique des milieux.

Les expériences de J. DE SAUSSURE ont été faites avec des appareils ne garantissant pas la stérilité des milieux. On peut tout de même admettre que la solution nutritive utilisée est contrôlable dans les limites de l'analyse chimique de l'époque.



Planche 1

Theod. de Saussure. — Recherches chimiques sur la végétation.
 Chez la V^e Nyon, Librairie, rue du Jardinot, No 2. An XII (1804).

L'école de SACHS utilisa dès 1880 des solutions minérales très purifiées pour rechercher les besoins en minéraux des plantes. Les cultures sont faites en milieux aqueux dont l'asepsie absolue est douteuse.

XVI. Vorlesung.

Die Nährstoffe der Pflanzen.

Im Jahre 1860 veröffentlichte ich die Resultate von Untersuchungen, welche den Beweis lieferten, dass man Landpflanzen auch ohne Mithilfe der Erde ihre Nährstoffe aus wässerigen Lösungen aufnehmen lassen kann und dass es auf diese Weise gelingt, nicht nur, wie man schon früher längst

wusste, Pflanzen längere Zeit am Leben und in Wachsthum zu erhalten, sondern auch eine namhafte Vermehrung ihrer organischen Substanz und sogar die Erzeugung keimfähiger Samen zu erzielen.¹⁾ Anfangs vielfach bestritten ist diese Methode künstlicher Ernährung der Pflanzen in den letzten 20 Jahren von verschiedenen Experimentatoren mehr und mehr ausgebildet und vervollkommenet worden, so dass sie gegenwärtig eines der wichtigsten Hilfsmittel für das Studium der verschiedenen Ernährungsfragen darbietet. Die Beschreibung der Art und Weise, wie ein solches Experiment angestellt wird und verläuft, giebt an und für sich schon ein klares Bild der wesentlichsten Ernährungsvorgänge einer hochorganisirten Pflanze.



Fig. 168. Einrichtung einer Kultur in Nährstofflösung.

Wir wollen annehmen, dass wir es mit der Gartenbohne (*Phaseolus*), oder der Kohlrübe, oder dem Mais (*Zea Mais*), oder dem Buchweizen (*Polygonum fagopyrum*) zu thun haben, Pflanzen, mit denen die größte Zahl derartiger Versuche bisher angestellt wurde.

Man lässt die Samen dieser Pflanzen am besten in einem mit gut gewaschenen, feuchten Sägespänen gefüllten Kasten keimen, bis die Keimwurzel mehrere Centimeter lang geworden ist. Nachdem man die Keim-

Planche 2

Julius Sachs. — Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, Verlag von W. Engelmann, 2. neubearbeitete Auflage, Leipzig, Seite 264 (1887).

Les travaux faits par J. LAURENT (51) en 1903 méritent une attention spéciale. Dans ses recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques, ce savant adapte des méthodes modernes au domaine de la nutrition des plantes vertes.

Il cite les recherches faites avec les milieux aqueux relatées par PFEFFER (52). Il introduit des méthodes nouvelles et applique les connaissances acquises dans le domaine de la bactériologie, étant familiarisé avec les travaux de l'Institut Pasteur (53). L'asepsie des graines et des tissus était un problème controversé. J. LAURENT fut obligé d'élucider cette question, il mit au point la méthode de stérilisation superficielle des graines, à l'aide de substances chimiques. Elle lui permit d'entreprendre des cultures de végétaux verts en milieu liquide aseptique.

J. LAURENT cite les travaux de V. GALIPPE (54) et de E. LAURENT (55).

Il met également au point des méthodes de culture pour plantes supérieures. Ces premiers dispositifs sont représentés sur la planche 3.

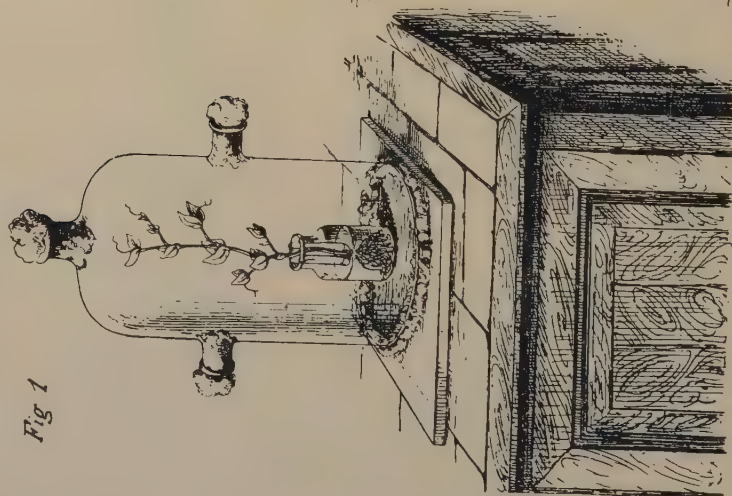


Fig 1

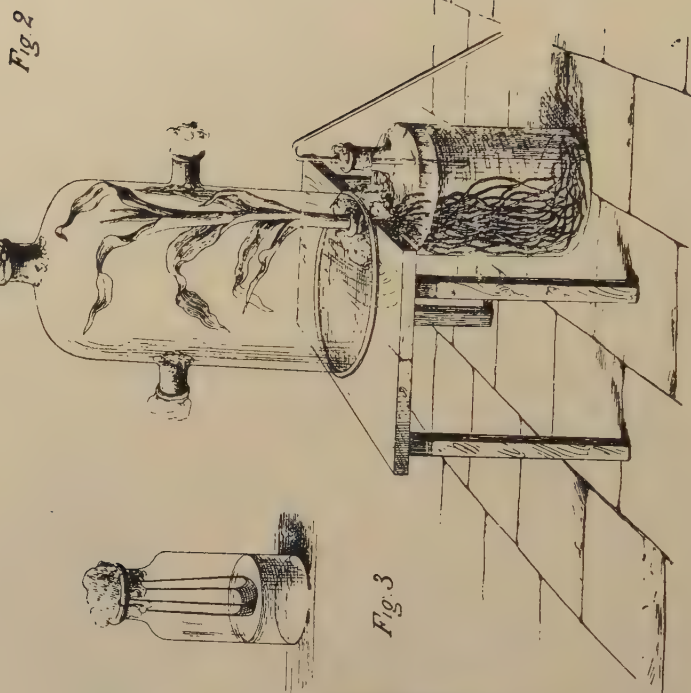


Fig 2

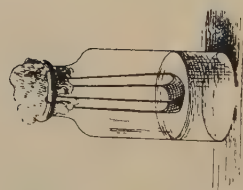


Fig. 3

E. Laurent del.

Imp. Le Bigot.

J. Poinsoot sc.

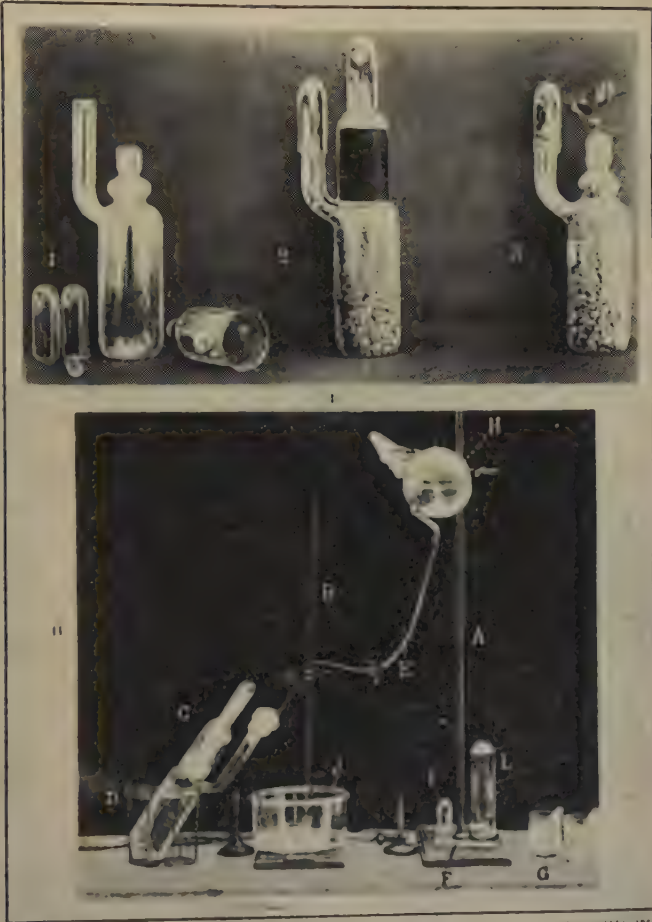
Appareils pour cultures en milieu stérilisé.

Planche 3

Laurent J. — Recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques. Le Bigot Frères, Lille, (1903).

Les méthodes de culture en milieux aqueux stériles furent perfectionnées par plusieurs savants.

Citons : R. COMBES (voir planche 4). H. AGULHON (voir planche 6) et M. MOLLIARD (voir planche 7).



Culture de plantes supérieures en milieu stérilisé

Planche 4

Raoul Combes — Recherches biochimiques expérimentales sur le rôle physiologique des glucosides chez les végétaux — *Revue générale de Botanique* (1917 et 1918), tome XXIX et XXX.



PLASCHÉ I. — Culture de blé en milieu liquide stérile.

Les doses de bore vont en croissant de gauche à droite.

Planche 5

Agulhon H. — Recherches sur la présence du Bore chez les végétaux.
Thèse Faculté des sciences de l'Université de Paris. L. Barnéoud et Cie,
Laval, p. 94 (1910).

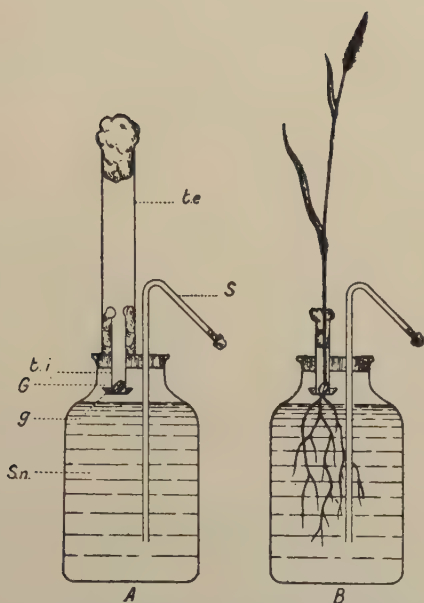


FIG. 140. — Appareil de Javillier et Agulhon pour la culture aseptique des plantes supérieures.

A, au moment de l'ensemencement. B, après développement de la plante.

L'appareil est constitué par un flacon contenant la solution nutritive synthétique (s. n.) et dont le bouchon est percé de deux orifices. L'un de ceux-ci est traversé par un siphon, s, permettant d'ajouter dans le flacon, en cours d'expérience, de l'eau stérilisée, afin de maintenir le niveau constant (l'extrémité libre du siphon est normalement obturée). Par l'autre orifice passe un tube de verre, t. i., fermé, à son extrémité inférieure, par un tamis de gaze, g. Un tube de plus fort calibre, t. e., dont l'extrémité supérieure est obturée par un tampon d'ouate, recouvre le tube t. i. autour duquel il est maintenu par un collier d'ouate.

Après stérilisation, à l'autoclave, de l'appareil garni du milieu de culture, on dépose aseptiquement une graine superficiellement stérilisée G sur le tamis, fermant l'orifice inférieur de t. i. La graine germe, développe ses racines dans la solution synthétique et sa tige feuillée à l'abri du tube t. e.; quand celle-ci est devenue trop grande pour trouver place sous ce tube, on enlève ce dernier et la tige est alors maintenue, dans le tube t. i., par un collier d'ouate stérile.

Planche 6

N. Agulhon et M. Javillier. — (Voir A. Guillermond et G. Mangenot. — Biologie végétale. P.C.B. p. 305 (1946).

de tout microorganisme, sans qu'aucune substance antiseptique ait eu à intervenir.

Les résultats ont été les mêmes, dans ces nouvelles condi-

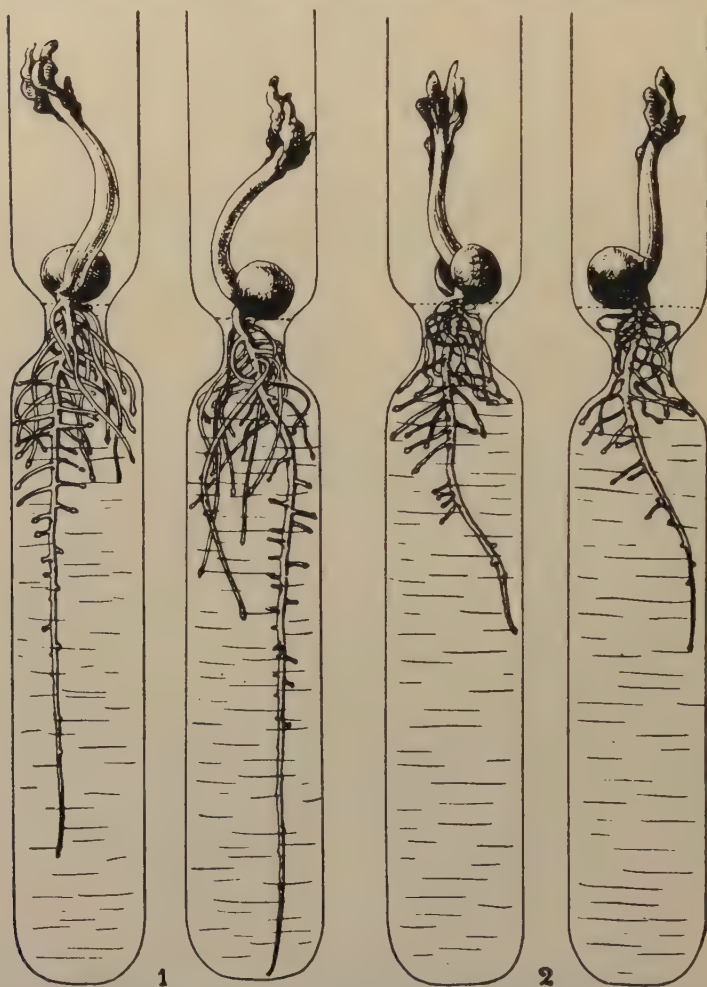


Fig. 1 et 2. Cultures de Pois dans de l'eau qui a servi antérieurement à cultiver une première plantule (tubes 2). Les cultures servant de témoins aux précédentes sont figurées en 1 (figures réduites au 3/5^e).

tions que dans les expériences précédentes ; c'est ainsi que la moyenne des poids de matière sèche des racines était de 14 mgr. 1 lorsque les plantules étaient cultivées sur de l'eau distillée qui avait déjà servi à une première culture de Pois, alors que ce poids était de 17 mgr. 3 dans les cultures témoins ; c'est donc bien à une excrétion de racines qu'il faut rapporter

Planche 7

Marin Molliard — Oeuvres scientifiques — Imprimerie Barnéoud à Laval, p. 90, 1936.

En complément de ces techniques de laboratoire, nous avons les expériences faites en pleine terre (voir planche 8), en pots de WAGNER (voir planche 9) ou selon des méthodes en vogue dans plusieurs pays, sur sable additionné de solution nutritive et même en solution aqueuse (voir planche 10).

La planche 10 représente des possibilités de culture dans différents milieux ; la tomate est choisie comme plante test. La croissance semble d'une valeur égale pour toutes les conditions de culture employées.



Planche 8

Die Ernährung der Pflanze (1934) 30, Heft, 7, p. 129.



Abbildung 3

NPK
des Höchstertrages A:
71,2
Mischung
Boden: Sand 1:5,
angewandte Boden-
menge je Gefäß 1,25 kg

Rechts:

NPK
des Höchstertrages A
67,0
Mischung
Boden: Sand 1:10,
angewandte Boden-
menge je Gefäß 0,68 kg



Abbildung 4

Abbildungen 1-4: Prüfung des Kalibedürfnisses nach Mitscherlich mit verschiedenen Bodenlandgemischen in Lauchflädt (Scheffer) mit 10 nährstoffbedürftigen Böden zu Hafer
Gefäße des Bodens 9 mit Bodenlandmischungen: 1:0, 1:1, 1:5, 1:10

Die Ertragsunterschiede der verschiedenen Bodensandmischungen sind erheblich

Planche 9

Die Ernährung der Pflanze (1934) 30, Heft 6, p. 103. Die Bestimmung des Kalivorrates nach Mitscherlich und Weissmann, von Privatdozent Dr F. Scheffer.



Planche 10

D. R. Hoagland. — Lectures on the inorganic nutrition of plants.
Chronica Botanica (1944), Plate 20.

Growth of tomato plants in three types of culture soil, sand and solution. All cultures yielded at the same order of magnitude, when grown side by side in the greenhouse. All yields of fruit were very large. From Arnon and Hoagland, 1940.

The solution culture technique was that devised by W. F. Gericke.

2. *Les analyses chimiques.*

Nous croyons utile de donner, par quelques extraits de livres connus, un aperçu de ce que furent et ce que sont maintenant les analyses chimiques des sols et de la matière végétale.

Les tableaux des analyses de DE SAUSSURE (planche 11) furent suivis des « Tableaux de la valeur comparée des engrais » publiés dans un livre où BOUSSINGAULT met bien en évidence ce qu'il faut comprendre par chimie agricole (planche 12).

En dernier lieu, c'est LUNDEGÆRDH qui mit au point la méthode d'analyse spectrométrique dont les appareils sont représentés sur la planche 13.

T A B L E A U
DE LA VALEUR COMPARÉE DES ENGRAIS.

DESIGNATIONS.	EU POUR 100.	AZOTE dans 100 de MATIÈRE		ACTES PRODUITS dans 100 de matière sèche.	ÉQUIVALENT sans LE RAPPORT DE L'AZOTE A L'ÉTAT		ÉQUIVALENT sans le rapport DE L'AZOTE PRODUITS A L'ÉTAT		OBSERVATIONS.
		sèche.	non desséch.		sec.	non desséché	sec.	non desséché	
Fumier de ferme.....	79,0	2,00	0,41	1,00	«	«	«	«	Bechelbronn.
Fumier de ferme.....	65,0	1,80	0,63	2,25	«	«	«	«	Angleterre.
Fumier d'écurie.....	60,6	2,08	0,79	«	«	«	«	«	
Fumier du Jardin-des-Plantes.	58,5	1,29	0,53	1,21	«	«	«	«	Paris.
Fumier de Grignon.....	70,5	2,45	0,72	2,00	«	«	«	«	Fumiers mélang. p. M. Bella
Fumier de la ménagerie....	66,8	1,60	0,53	0,78	«	«	«	«	Provenant de divers ani- maux.
Fumier moyen.....	66,7	1,87	0,60	1,45	100,0	100,0	100,0	100,0	Moyenne des fumiers précé- d.
Paille de froment.....	19,3	0,50	0,24	0,22	623,5	250,0	659,1	266,7	Paille fraîche d'Alsace.
Paille de froment.....	5,3	0,55	0,49	0,21	352,8	122,5	690,5	240,0	Paille ancienne de Paris.

Paille de seigle.....	12,2	0,20	0,17	0,15	955,0	552,9	966,6	389,2	D'Alsace.
Paille de seigle.....	12,6	0,50	0,42	«	374,0	142,9	«	«	Environs de Paris.
Paille d'avoine.....	21,0	0,56	0,28	0,21	519,4	214,2	690,5	300,0	
Paille d'orge.....	11,0	0,26	0,25	0,20	719,2	260,9	725,0	266,7	
Balles de froment.....	7,6	0,94	0,85	0,57	198,9	70,6	254,4	90,6	
Paille de pois.....	8,5	1,95	1,79	«	95,9	33,5	«	«	Alsace
Paille de millet.....	19,0	0,96	0,78	«	194,8	76,9	«	«	
Paille de sarrasin.....	11,6	0,54	0,48	«	346,3	125,0	«	«	
Paille de lentille.....	9,2	1,12	1,01	«	166,9	59,4	«	«	
Tiges sèches de topinambours	12,9	0,45	0,57	«	434,9	162,1	«	«	
Fanes de mada.....	14,3	0,66	0,57	«	285,3	105,3	«	«	
Fanes de colza.....	12,8	0,86	0,75	0,30	217,4	80,0	485,3	184,6	
Fanes d'aillette.....	13,5	1,10	0,95	«	170,0	63,1	«	«	
Fanes de pommes de terre...	76,0	2,50	0,55	«	81,3	109,1	«	«	

Planche 12

Boussingault J.-B. — Economie rurale considérée dans ses rapports avec la chimie, etc. Béchet Jeune, Paris, 2me éd. Tome second, p. 116 (1851).

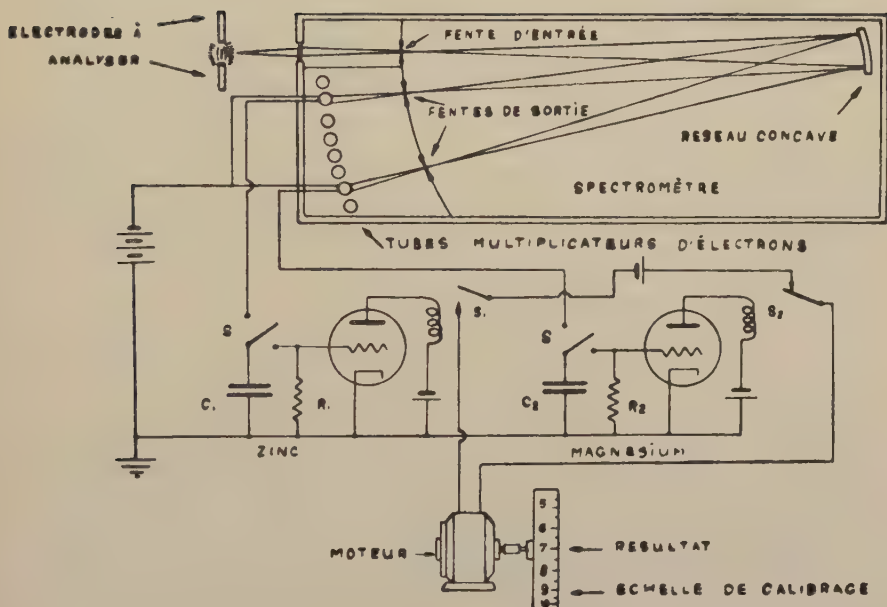


Planche 13

Gillis J. — La spectrochimie, son histoire, son développement et ses applications. Extrait des Actes de la Société Helvétique des Sciences naturelles, Genève (1947), p. 31-48. Ce schéma indique ce que peut être un appareil automatique pour le dosage en moins de 60 secondes du pourcentage de 10 éléments mineurs du magnésium industriel.

- 1) Liebig — Die Grundzüge der Agrikulturchemie mit Rücksicht auf die in England angestellten Untersuchungen. Braunschweig 1855, p. 18.
- 2) Liebig — Die Chemie u. ihre Anwendung auf Agrikultur u. Physiologie. 9. Auflage 1875, p. 41.
- 3) Lundegaerth H. — Die quantitative Spektralanalyse der Elemente I Gustav Fischer, Iena, 1929.
Die quantitative Spektralanalyse der Elemente II — 1934.
- 4) Bertrand G. — Ergebnisse der Vitamin und Hormonforschung. (1939), 2, p. 204.
- 5) Molliard Martin. — L'humus est-il une source directe de carbone pour les plantes vertes supérieures? C. r. Acad. Sc. Paris (1912), 154, 291-294.
Cultures associées de radis et de cresson en présence de glucose ou de saccharose. Bull. Soc. Bot. Fr. (1909), 56, 382-383.
Laurent J. — Recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques. Thèse Paris 1903.
- 6) Grandeau — Recherches sur le rôle des matières organiques dans les phénomènes de la nutrition des plantes. Journal de Pharmacie et de Chimie (1872), 16, p. 81, et C. r. Acad. Sc. Paris (1872), 74, 988-991.
- 7) Höveler W. — Ueber die Verwertung des Humus bei der Ernährung der Chlorophyllführenden Pflanzen. Jahrbuch für wissenschaftliche Bot. (1892), 24, 283-315.
- 8) Dumont J. — C. r. Acad. Sc. Paris
(1857), 44, 980-984.
(1897), 152, 469-472.
(1904), 138, 1429-1431.
(1905), 140, 256-259.
- 9) Thenard — C. r. Acad. Sc. Paris (1857), 44, 980-984.
- 10) Pringsheim — Naturwiss. (1935), 23, p. -97.
- 11) Winogradsky S. — Principes de la microbiologie oecologique. Journal of microbiology and serology. Amsterdam (1947), 12, No 1-4.
- 12) Waksman — Trois conférences Masson. Paris 1947.
- 13) Quastel — Congrès des Sciences pastoriennes pour le 50^{me} anniversaire de la mort de Louis Pasteur. Paris 1945.
- 14) Molliard M. — Recherches calorimétriques sur l'utilisation de l'énergie respiratoire au cours du développement d'une culture de *Stérigmatocystis nigra*. Cpt. rendus Soc. Biol. (1922), 87, 219-221.
- 15) Terroine et Würmser — Le rendement énergétique dans la croissance de l'*Aspergillus niger*. C. r. Acad. Sc. Paris (1922), 174, p. 1435.
- 16) Mitscherlich E.-A. — Zeitschrift für Pflanzenernährung (1922), 49.
— Das Gesetz des Minimums und das Gesetz des abnehmenden Bodenertrages. Landw. Jahrbücher (1909), 38, p. 537.
- 17) Laurent J. — Recherches sur la nutrition carbonée des plantes vertes à l'aide de matières organiques. Thèse Paris 1903.
- 18) Bonner and Greene — Bot. Gaz. (938), 100, p. 226.
Bonner — American J. Botany (1942), 29, p. 136.
Bonner — The role of vitamins in plant development. Bot. rev. (1937), 3, p. 616.
- 19) Macaire M. — Sur les excréations des racines Ann. Sci. Nat. (1833), 28, 402-416.
- 20) Molliard M. — Sécrétion par la racine de substances toxiques pour la plante. Revue générale de Botanique (1915), 27, 257-264.
Robbins W.-J. and Bartley M.-A. — Vitamin B₁ and the Growth of Exsised Tomato Roots. Science (1937), 85, p. 246.
- 21) Stille B. — Arch. f. Microbiol. (1938), 9, p. 477.

- 22) Thom C. and Humfeld H. — J. Bact. (1912), 23, p. 79 et Soil Science (1932), 34, p. 29.
- 23) Prunet A. — Sur la perforation des tubercules de pomme de terre par les rhizomes du chiendent. Rev. Gén. de Botanique (1891). 3, p. 167.
- 24) Raulin — Etude chimique sur la végétation — Thèse science Paris 1870.
- 25) Frank — Neue Mittheilung über die Mycorrhiza der Bäume und der Monotropa hypopitys. Ber. dtsh. bot. Ges. (1885), 3, p. XXVII.
- 26) Bernard Noël — Thèse Paris 1901.
- 27) Cailletet — C. r. Acad. Sc. Paris (1911), 125 b, p. 1215.
- 28) Molliard Marin — Culture pure de plantes vertes dans une atmosphère confinée en présence de matières organiques. C. r. Acad. Sc. Paris (1905), 141, 389-392.
- 29) Melin E. — Methoden der experimentellen Untersuchung mykotrophen Pflanzen, Handbuch der biol. Arbeitsmethoden Dr E. Abderhalden (1936), 4, Heft 6.
- 30) Sachs J. — Vorlesungen über Pflanzenphysiologie, 2. Auflage 1887, p. 366.
- 31) Pfeffer W. — Pflanzenphysiologie. 2. Auflage 1897, 1. Band, S. 352.
- 32) Wallace T. — Diagnostic des carences minérales chez les végétaux. en particulier par les méthodes visuelles.
— Perspectives nouvelles dans la chimie des êtres vivants — Actualités scientifiques et industrielles — Hermann Editeurs, Paris 1949, I, 1073.
- 33) Agulhon Henri — Recherches sur la présence du bore chez les végétaux — Thèse Paris 1910.
Bertrand G. — Loc. cit.
Bertrand et Javillier — Action du manganèse sur *Aspergillus niger*. Ann. Inst. Pasteur (1912), 26, 241-249.
Javillier M. — La question de l'emploi de composés magnésiens en agriculture. Bull. Soc. Chim. Biol. (1936), 18, p. 255.
Lavollay J. — Le Magnésium. Etude sur son intervention dans quelques phénomènes biochimiques et sur le principe de son rôle agronomique — Hermann Editeurs, Paris 1936.
Lew O. — The Physiological Role of mineral Nutrients in plants U. S. Dept. Agr. Bu. Plt. Ind. Bull. (1903), 45.
Ueber die physiologischen Funktionen der Calcium und Magnesiumsalze im Pflanzenorganismus. Flora (1892), 75, 368-394.
Scharrer K. — Biochemie der Spurenelemente — Parey Berlin 1941.
- 34) Bledsue, W., Comar C.-L. and Harris H.-C. — Absorption of radioactive calcium by the peanut fruit. Science (1949), 109, p. 329.
Bugnard L. et Polonowski M. — Les méthodes des isotopes en physiologie — Journal de Physiologie — Tome 40 — 1948 — No L, fasc. 1, 1a à 49a.
Calvin M. and Benson A.-A. — The path of carbon in photosynthesis IV. — Science, Tech. II, 1949 — Vol. 109 p. 140.
Hoagland D. R. and Arnon D. I. — Some problems of plant nutrition — The scientific Monthly — Vol. LXVII No 3, September 1948.
- 35) Wildiers E. — Nouvelle substance indispensable au développement de la levure. La Cellule (1901), 18, p. 313.
- 36) Funk C. — Die Vitamine, Bergmann Editeurs München 1924.
- 37) Schopfer W.-H. et Mlle Guillaud — Une nouvelle variation culturelle pigmentaire d'*Eremothecium ashbyii*. Schw. Z. Pathol. und Bakt. (1945), 8, 521-527.
Schopfer W.-H., Posternak Th. et Mlle Boss — Le gammexane est-il l'antivitamine du mésoinositol ? Schw. Z. Pathol. und Bakt. (1947), 10, 443-454.
Grob E.-C. — Spektroskopische Untersuchungen an dem von

- Eremothecium ashbyii Guill. gebildeten Flavin-Pigment. Int. Z. f. Vitaminforschung (1948), 20, Heft 1/3.
- Ritter W. — Schw. Z. Pathol. und Bakt. (1944), 7, p. 370.
- 38) Beadle G. W. — Genes and the Chemistry of the Organisms American Scientist (1946), 34, p. 31.
- 39) Pontecorvo G. — Genetics of Micro-organisms. Schw. Z. Pathol. und Bakt. (1948), 11, fasc. 5.
- Schopfer W.-H. — Génétique et Vitamines. Archiv der Julius Klaus Stiftung für Vererbungsforschung. (1948), 23, Heft 3/4.
- Hadorn E. — Beziehungen zwischen Genetik der Mikroorganismen. Schw. Z. Pathol. und Bakt. (1948), 11, fasc. 5.
- 40) Uzan Maurice — Vitamines des aliments — J. B. Baillière et Fils, Paris 1938.
- Sandoz Louis-M. — A propos du contrôle des vitamines en Suisse (1942).
- Randoin L. et Simonet L. — Les données et inconnus du problème alimentaire II — Paris, les Presses universitaires 1927.
- 41) Heller — J. biol. chem. (1928), 76, p. 499.
- Hlavaty J. — Sur la disparition de la vitamine B des graines germinant dans un germeoir ou dans le sol. Cpt. rendus Soc. Biol. Paris (1929), 100, p. 587.
- Kucera — Variation de la teneur en vitamines B et C des graines de céréales au cours de la germination. Cpt. rendus Soc. Biol. Paris (1928), 99, p. 967.
- Nasson A. — Existence of a tryptophan-niacin relation ship in corn. Science (1949), 109, p. 170.
- Terroine Th. et Desvaux-Chabrol J. — La synthèse de l'acide nicotinique au cours de la germination. Laboratoire de Biochimie de Nutrition du C.N.R.S.
- Virtanen A. et von Hausen S.S. — Role of substances formed during germination, in the growth of plants. Nature (1949), 163, 41-43.
- 42) Bonnet Ch. — Recherches sur l'usage des feuilles dans les plantes et sur quelques autres sujets relatifs à l'histoire de la végétation (5me mem.) — Göttingue et Leyde, E. Luzac Fils 1754.
- Rytz W. — Beitrag zum Aneurinstoffwechsel bei höheren Pflanzen. Ber. Schw. Bot. Ges. (1939), 49, p. 339.
- 43) Burgeff H. — Samenkeimung der Orchideen und Entwicklung ihrer Keimpflanzen. Iena, Gustav Fischer 1936.
- 44) Guyot H. — Sur l'influence de l'aneurine sur la formation des nodosités bactériennes nitrogènes. Experientia (1946), 2, 143-145.
- 45) Bertrand G. et De Waal H.-L. — Sur la teneur comparative en bore des plantes cultivées sur le même sol. C. r. Acad. Sc. Paris (1939), 200, 605-609.
- 46) Bottomley M.-A. — The significance of certain food substances for plantgrowth. Ann. of Bot. (1914), 28, 531 ff.
- Some effects of organic growth promoting substances (auximones) on the growth of Lemna minor in mineral culture solution. Proc. roy. Soc. London (1917), B 89, p. 481.
- 47) Mc Carrison — Brit. Med. J. (1924), 1, p. 267.
- Hunt — Agr. Exp. Sta. Ohio Bull. (1927), p. 415.
- Rowlands M.-J. and Wilkinson B. — Vit. B₁ content of grass seeds in relationship to manures. Biochem. J. (1930), 24, p. 109.
- Koegl F. and Haagen Smit A.-J. — Biotin und Aneurin als Phytohormone. Zeitschrift f. physiol. Chem. (1936), 243, p. 209.
- Knight B.C.J.G. — Bacterial nutrition. Material for a comparative physiology of bacteria. Med. Res. Council, London 1936.
- Scheunert A. u. Schieblich — Ueber den Einfluss der Düngung auf dem vit. B₁ Gehalt von Weizen. Tierernährung m. z. 8, 120.
- Siehe auch: Die Ernährung der Pflanzen (1936), 32, p. 288.

- Scheunert und Schiebllich — Biedermann Zbl. f. Agrikulturchem. (1936), 32, p. 288.
- Bonner J. — The role of vitamins in plant development. Bot. Rev. (1937), 3, p. 616.
- Bonner J. and Addicott F. — Cultivation in vitro of excised pea roots. Bot. Gaz. (1937), 99, p. 144.
- Gautheret R. — Nouvelles recherches sur la culture du tissu cambial. C. r. Acad. Sc. Paris (1937), 205, p. 572.
- Bonner J. and Greene J. — Vit. B₁ and the growth of green plants. Bot. Gaz. (1938), 100, p. 226.
- Harris Leslie J. — Synthesis in the Plant. Effect. of manuring. Churchill Ltd. London 1938.
- Scheunert A. u. Wagner K. H. — Weitere Untersuchungen an Gerste über Frage ob Düngungseinflüsse auf dem Vitamin B-Gehalt bestehen. Biochem. Z. (1939), 303, p. 200.
- Ueber den Einfluss der Düngung auf dem Vitamin-Gehalt (mit quantitative vit. A. Bestimmungen in Grünkohl, Spinat, Rosenkohl u. Tomaten). Biochem. Z. (1939), 303, p. 266.
- Burkholder and Mc Veigh — Americ. J. Botany (1940), 27, p. 853.
- Hamner Charles L. — Effects of vit. B₁ upon the development of some Floweringplants. Bot. Gaz. (1940), 102, No 1.
- Templeman W. G. and Marmoy C. J. — The effect upon the growth of plants of watering with solutions of plant growth substances and of seed dressing containing these materials. Ann. Appl. Biol. (1940), 27, p. 453-471.
- Ahlgreen G. H. — The effect of adding vit. B₁ (thiamin) to several grass species. Journ. Amer. Soc. Agron. (1941), 33, p. 572-576.
- Donnelly Maurice — Effects of Vit. B₁ on woody Erosion-control plants. Science (1941), 94, p. 71.
- Jecklin L. — Lässt sich das Wachstum der Pflanzen durch Vitamin B₁ beeinflussen? Davoser revue (1941), 1.
- Laurie A. and Kiplinger D. C. — The effect of vitamin B₁ on some ornamental greenhouse plants. Agr. Exp. Sta. Ohio. Bull. (1941), 26, 17-28
- Minnum E. C. — Effect of vitamin B₁ on yield of several vegetable cropplants. Proc. Amer. Soc. Hort. Sc. (1941), 38, p. 475-476.
- Mirimanoff A., Schmotkin et Hassler — Influence de la vitamine B₁ sur la culture du pavot somnifère. Premiers résultats. Bull. de la Soc. Bot. de Genève (1941) 33, 558me séance.
- Murneck A. E. — Vitamin B₁ as organic Matter for plant growth. Americ. Soc. Hort. Sci. (1941), 38, 715-717.
- Templeman W.-G. and Pollard N. — The effect of vit. B₁ and Nicotinic acid upon the growth and yield of spring oats and tomatoes in sand culture. Ann. of Bot. (1941), 5, 133-147.
- Neipp Lucien — Contribution à l'étude de l'influence de la vitamine B₁ sur la croissance des végétaux supérieurs. Essais sur la valériane officinale. Pharm. acta Helv. (1943), No 8/9.
- Schmotkin A. Schüpbach J. L., Moudon E. et Mirimanoff A. — Influence de l'aneurine (vitamine B₁ sur la culture du pavot somnifère. Pharm. acta. Helv. (1944), 19, 83-94.
- Sandoz Roger — Influence de l'aneurine sur la croissance de cerne plantes — Thèse — Bull. de la Soc. Bot. de Genève (1945), 36.
- 48) Hurni Hans — Die Biosynthese von Aneurin in der höheren Pflanze. Der B₁-Gehalt von Melandrium album unter verschiedenen Bedingungen — Thèse Bern 1944. Voir Zeitschrift für Vitaminforschung.
- 49) Arnon D. — The nutrition value of plants grown with and without soil. Soil Science (1947), 63, No 2.
- 50) Wokes Frank, J. R. Barr, L. Brunskill and A. C. Shaw — Seasonal Nature (1947), 159, p. 14.

- variations in vit, C content of tomatoes grown in Great Britain
- 51) Laurent J. — Recherches sur la nutrition carbonée de splantes vertes à l'aide de matières organiques. Thèse Paris 1903.
 - 52) Pfeffer — Pflanzenphysiologie (1897), Bd. I, p. 397.
 - 53) Duclaux — Notes sur la germination dans un sol riche en matière organique mais privé de microbes. C. r. Acad. Sc. Paris (1885), 100, p. 66.
 - 54) Galippe V. — Notes sur la présence de micro-organismes dans les tissus végétaux. Cpt. rendus Soc. Biol. (1887), 52, p. 6.
 - 51) Laurent J. — Recherches sur la nutrition carbonée des plantes supérieures. 1899 (Cit. Cf. J. Laurent. Thèse Paris 1903).

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES SUR LES VITAMINES DU SOL ET LEUR IMPORTANCE POUR LES PLANTES

I. Introduction

Les expériences faites à l'aide des méthodes analytiques ou synthétiques qui se développèrent restent à la base de toutes recherches scientifiques.

Nous pouvons démontrer, en recherchant l'origine des problèmes, quelle est la direction à donner aux travaux actuels. L'humus n'est pas la substance homogène, l'espèce chimique dans le sens de LIEBIG (1).

On ne peut accepter sans autre que les molécules, biologiquement actives *in vitro* ou dans l'animal et présentes dans le sol, soient nécessairement actives sur la végétation. Cette présence n'est qu'un indice vérifié à l'aide d'expériences appropriées.

L'influence de certaines de ces molécules, bien que probable, doit encore être démontrée.

L'étude de la fraction organique du sol n'est pas un retour à la théorie classique dite de l'humus. Ce n'est pas le rôle alimentaire des molécules contenant du carbone qui nous préoccupe ; la photosynthèse suffit pour la plupart des végétaux verts à couvrir le besoin en carbone de la plante. A vrai dire, le rôle des substances organiques azotées est moins bien connu.

Ce qui nous intéresse, c'est de savoir si les complexes organiques, partiellement dégradés, actifs en dose infime, peuvent retourner à l'organisme et s'intégrer à nouveau dans le métabolisme. Cette possibilité signifierait certainement une économie d'énergie puisque la synthèse totale à base de substances minérales n'est plus nécessaire. D'autre part, dans les cas connus de perte totale du pouvoir de synthèse, la nécessité serait absolue.

BOAS émet en 1928 l'opinion que les facteurs de croissance, nommés « vitamines » par FUNK, présents dans la végétation, participent à des échanges entre le sol, la plante et l'animal (2). Les dépendances que cet auteur prévoit n'étaient pas établies expérimentalement ; les recherches effectuées ultérieurement prouvèrent que le schéma, trop simple, ne rend pas compte de toutes les parti-

cularités d'un problème ayant des répercussions multiples et insoupçonnées à l'époque. Les travaux sur lesquels nous pouvons nous appuyer, débutent probablement en 1935 au moment où PRINGSHEIM (3) se demande si le sol contient des facteurs de croissance. L'effet stimulant d'un extrait de terre riche en humus sur les cultures d'*Azotobacter* et de différents organismes (*Polytoma*, *Polytomella*, *Chlorogonium* et *Chilomonas*) était connu. On expliquait cette action par un apport de substances nutritives indispensables, par la présence de fer sous forme spécialement active, par un effet tampon, par l'action des substances humiques spécifiques ou par celle des colloïdes. PRINGSHEIM relève que plusieurs faits parlent en faveur de la présence d'une substance du groupe des « Bios » pour laquelle N. NIELSON avait choisi le nom de facteurs de croissance B.

Cette substance très répandue accélère la croissance des Levures et d'*Aspergillus*. Contrairement au facteur actif sur la coléoptile de l'avoine, ce facteur B n'est pas soluble dans l'éther et pas oxydable par l'eau oxygénée. L'extrait de terre se comporte comme une substance du groupe B mais certaines différences caractéristiques conduisent pourtant PRINGSHEIM à ne pas identifier la partie active de l'extrait de terre aux facteurs de croissance précédemment décrits. Il conclut à l'effet de « substances humiques ».

A. LWOFF et E. LEDERER (4) reprennent la même année, le travail de PRINGSHEIM et font des recherches avec un milieu additionné d'« extrait de terre ». Le but était de décrire le mode d'action de cet extrait sur des Protozoaires. L'extrait de terre est préparé à l'aide d'humus soumis à l'ébullition pendant 10 minutes dans de l'eau distillée. La terre est séparée ensuite par centrifugation et filtration sur papier ; l'extrait ainsi obtenu est utilisé après stérilisation de 20 minutes à 120°. C. LWOFF et LEDERER confirment certains résultats obtenus par PRINGSHEIM et remarquent que la partie active peut être absorbée par le charbon animal et détruite par calcination, ce qui prouve que l'activité n'est pas due à l'enrichissement du milieu en éléments minéraux. Ces chercheurs doutent pourtant que ce soit les « Humusstoffe » qui soient actifs, l'acide humique de MERCK n'étant efficace qu'à des concentrations trop fortes. En conclusion, LWOFF et LEDERER estiment que l'action de l'extrait d'humus est extrêmement complexe ; ils ne retiennent de leur résultat que la grande sensibilité de *Polytomella agilis* à des doses très faibles de substances nutritives.

En 1938, J. BONNER et J. GREEN (5) constatent l'importance de la vitamine B₁ comme facteur de croissance pour les racines de plantes supérieures. Ces auteurs démontrent une action de la vitamine B₁ sur plusieurs plantes chlorophylliennes en culture sur sable. Ils s'occupent aussi des engrais organiques et des autres sources de vitamine B₁ dans le sol. Avec le test *Phycomyces*, ces auteurs décèlent les doses de vitamine B₁ suivantes : Arizona steer manure 0,13 mg/kg ; Local steer manure 0,08 mg/kg ; Alfalfa plant

5,0 mg/kg ; Dairy manure 0,13 mg/kg ; *Azotobacter* 140 mg/kg.

G. LILLY et L. LEONIAN (6) inspirés par la lecture du livre de WILLIAMS et SPIES (7) recherchent si des vitamines se trouvent dans le sol. En 1939, après avoir prélevé de la terre dans un champ cultivé puis dans un sol non remanié et l'avoir extraite sur un bain-marie pendant 5 heures, ils mesurent la croissance de *Phytophthora eryphoseptica*, *Phycomyces*, *Phythiomorpha gonapodioides*, *Mucor ramannianus* et *Sordaria fimicola* en présence de ces extraits.

On sait que *Phytophthora* nécessite pour sa croissance la molécule complète d'aneurine, que *Phycomyces* se contente du mélange pyrimidine et thiazol, que *Phythiomorpha* croît en présence de la pyrimidine seulement, que *Mucor ramannianus* a besoin du thiazol seul et que *Sordaria* réagit à la biotine. Les auteurs conclurent que la terre contient ces substances en doses décroissantes selon la profondeur. Tous les facteurs de croissance ne sont pas liés à la présence de micro-organismes vivants, on retrouve ces facteurs jusqu'à 8 pieds de profondeur.

F.-W. MULLER dans une thèse de doctorat faite à l'Institut botanique de l'Université de Berne, s'occupe de la physiologie des facteurs de croissance de *Mucor ramannianus*, un champignon isolé à partir du sol (8). Un chapitre est consacré aux vitamines du sol. Le problème est même suffisamment avancé pour que l'on puisse se demander quelles sont les sources qui augmentent le contenu en vitamines du sol. MULLER établit l'action stimulante d'un extrait de terre prélevée jusqu'à la profondeur de 12 à 15 cm. Il remarque que dans la terre prélevée en montagne (1200 m) où la végétation pousse sans contrainte, on retrouve les facteurs actifs sur *Mucor ramannianus*. Ce travail relate des expériences originales faites dans le but de démontrer l'action absorbante de la terre sur des solutions d'aneurine cristallisée. MULLER considère le facteur présent dans la terre comme étant de la vitamine B₁.

Dans une mise au point W.-H. SCHOPFER (1941) (9) décrit ce que peut être l'action des vitamines sur la végétation et leurs relations avec le sol et les engrais. Nous trouvons dans « Plants and Vitamins » (1943) (10), la description d'un cycle des facteurs de croissance.

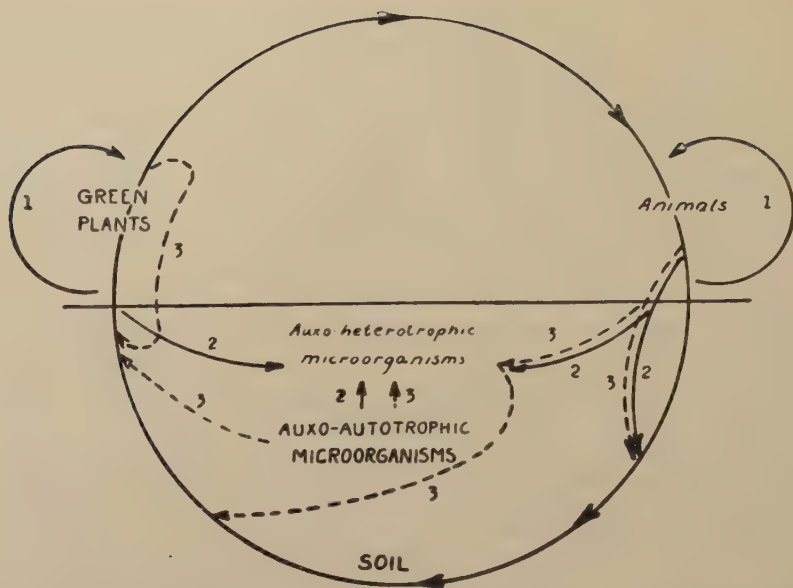


FIG. 16. — Cycle illustrating the direct and indirect relationships among the various groups of organisms. Capital letters designate auxo-autotrophic organisms; small letters, auxo-heterotrophic organisms. 1: symbiotic microorganisms; 2: products secreted and excreted by the living organisms; 3: products released by the disintegration of dead organisms containing vitamins.

GRAPHIQUE 1

Cycle des facteurs de croissance selon W. H. Schopfer (Plants and vitamins, 1943).

Avant la date où nous avons entrepris nos propres recherches, parurent en 1943 deux travaux, l'un de CARPENTER(11), l'autre de HUTCHINSON (12).

CARPENTER signale la présence de la vitamine B₂ (riboflavine) dans le sol. Il prépare un extrait de terre en plaçant 25 gr de matière dans un erlenmeyer de 250 cm³ puis il ajoute 150 cm³ d'acide sulfurique 0,25 n. Le tout est mis dans un soxhlet ou autoclavé pendant 1 heure. Le liquide est ensuite décanté. Toutes les opérations sont faites à l'obscurité pour empêcher la destruction de la vitamine B₂. Avec l'extrait ainsi préparé, l'auteur appliqua premièrement, la méthode chimique proposée par H. KAHLER et E.-P. DAVIS (Proc. soc. exp. biol. med. 44 : 604, 1940) et deuxièmement la méthode biologique à l'aide de *Lactobacillus casei* type 7469 dont la technique parut dans le Journal of the Association of Official Agricultural Chemists for May 1941. CARPENTER ne s'exprime pas quant à la quantité absolue en vitamine B₂ du sol mais il dit qu'à l'aide de ces deux méthodes, la présence de cette vitamine a pu être démontrée. Cet auteur remarque judicieusement que le fait de trouver de la vitamine B₂ dans le sol ne veut pas dire qu'elle soit active sur les végétaux. Un deuxième groupe d'expériences faites avec des plantules de tomates, de tabac, de fuchsia et de carottes lui

permet pourtant de conclure à l'absorption de la vitamine par la plante. Comparées à des témoins cultivés en solution aqueuse dépourvue de vitamines, les plantes qui poussent dans une solution nutritive contenant de la vitamine donnent une sève enrichie en vitamine B₂. Cette sève est récoltée à l'aide d'une burette fixe sur la tige coupée.

Quant à HUTCHINSON, il dose l'aneurine dans les eaux d'un lac à l'aide du test *Phycomyces* de SCHOPFER, selon la méthode décrite par BURKHOLDER et MCVEIGH. La quantité d'aneurine varie entre 0,03 et 1,2 γ /litre. Les variations saisonnières sont nettes, aussi bien pour l'aneurine liée aux micro-organismes du lac que pour l'aneurine en solution. L'auteur ne trouve pas d'accumulation de la vitamine dans l'hypolimnion à la fin de la stagnation. Quelques essais à l'aide du test de SNELL, EAKIN et WILLIAM, (1941) furent faits pour la biotine. L'eau contient $3 \cdot 10^{-3}$ γ /litre de cette molécule. E. HUTCHINSON décrit très clairement les problèmes écologiques soulevés par la présence de facteurs de croissance dans ces eaux.

En 1944, NIELS NIELSEN (13) se voit contraint d'utiliser l'extrait de terre pour étudier le comportement physiologique de *B. Radicicola*. Cet extrait de terre contient un facteur actif qu'on retrouve chez les végétaux verts mais qui n'existe pas en dose plus forte, dans les légumineuses servant souvent d'hôtes à ces bactéries. La concentration de ce facteur dans le sol est faible. Il se peut donc qu'on soit en présence d'un facteur limitant.

Malgré les travaux cités ci-dessus, certains points du cycle des vitamines proposé par W. H. SCHOPFER restaient à vérifier au moment où nous avons commencé nos recherches. Depuis lors, dans le laboratoire où nous avons travaillé, l'adérmine, le meso-inositol, la riboflavine, l'acide nicotinique ont été dosés quantitativement dans le sol à l'aide du test microbiologique.

Au début de notre travail (14), pour préciser, nous avons tout d'abord mis au point un procédé rapide de détermination de l'aneurine et de la biotine dans le sol (voir partie technique). Cette technique nous permet ensuite d'aborder des problèmes pouvant être rapportés à d'autres travaux concernant la microbiologie du sol, car le cycle prévoit des relations entre les micro-organismes auxoautotrophes ou auxohétérotrophes du sol. Il faut rechercher ce que deviennent les vitamines libérées par l'ensemble des organismes et quels sont les facteurs qui peuvent influencer la concentration des vitamines dans le sol. Dans notre travail nous étudierons ce que peut être l'action des facteurs de croissance sur la plante chlorophyllienne. Pour ce faire, il sera utile, tout d'abord, d'apprendre à mieux connaître les vitamines du sol. Nous déterminerons leur concentration et les fluctuations au cours des saisons. Nous verrons si des engrais ou d'autres substances chimiques, déposées à la surface du sol, influencent la teneur en vitamines des couches inférieures. Nous n'avons

pu entreprendre parallèlement des analyses concernant le nombre et les espèces des divers micro-organismes du sol qui subissent probablement des variations parallèles.

Les molécules de vitamines sont solubles dans l'eau et peuvent circuler dans le sol, être absorbées et agir sur d'autres organismes. La présence de vitamines dans le sol est très explicable. Il existe des plantes et des micro-organismes qui les synthétisent et les libèrent par la suite. Ces vitamines retournent donc au sol pour y être transformées. La molécule active sur les tests microbiologiques n'est pas détruite aussi rapidement qu'on pourrait le supposer.

La façon de pourvoir à l'approvisionnement en végétaux verts ou en plantes médicinales utiles à l'homme, prend à notre époque, deux directions distinctes. D'une part, on utilise de plus en plus les cultures en milieu liquide qui donnent pour certains végétaux d'excellents résultats. D'autre part, on s'attache à conserver la fertilité des sols cultivés intensément et qui s'épuisent. On s'applique aussi à activer, par des techniques appropriées, la transformation des sols incultes en sols fertiles, propres à l'agriculture.

La disposition des expériences pose certains problèmes. Pour n'envisager que deux extrêmes, nous avons la possibilité de travailler en milieu synthétique stérile ou sur un sol quelconque.

Le travail sur milieu liquide, synthétique et stérile, semble être, à première vue, la méthode qui fournira la démonstration la plus définitive. Tout y est mesurable. Pourtant, réflexion faite, le milieu complexe, incontrôlable dans toutes ses particularités, représenté par le sol, n'est pas moins favorable.

Le milieu liquide stérile n'est pas celui où le végétal croît habituellement. Aucune des molécules organiques présentes dans tous les sols cultivés, n'y figure. Les conditions physiques, à moins d'un substrat convenable, sont certainement artificielles ; la racine est entourée d'eau, même si ce n'est pas une plante aquatique. Le problème de l'aération et de la respiration se pose. Ce mode de vie n'est pas naturel. Le sol fournit au végétal une ration plus riche. C'est dans ce milieu-là qu'on pourra observer des synergismes, des stimulations ou d'autres phénomènes explicables par la diversité des molécules présentes. La complexité qui semblait être un obstacle devient ainsi une qualité.

Chaque résultat n'aura une signification que pour le cas étudié. C'est en accumulant et en comparant des résultats isolés, qu'on arrivera probablement à une compréhension plus exacte du phénomène. Une certaine systématique dans l'ordonnance des expériences sera naturellement indispensable. Mais ces difficultés peuvent être surmontées, elles font partie de la « méthodologie agronomique » dont I. A. PASTAC parlait récemment (15).

Nous avons porté notre choix sur deux végétaux, l'Épinard (*Spinacia oleracea*) et la Tomate (*Solanum lycopersicum*).

À l'aide de plusieurs engrais industriels et d'arrosages nous avons créé dans ce terrain cinq conditions de culture différentes.

Il fut possible d'observer les plantes au cours d'une saison et de faire les récoltes nécessaires aux analyses.

Nous avons donc abandonné l'idée de travailler parallèlement en milieu liquide stérile, car cette méthode reste pour l'instant en dehors de nos possibilités.

- 1) Shorey — U. S. Dep. of Agric. (1913), 88.
Hamence J. H. — The Occurrence of Auxine in Organic Manures — J. Soc. Chem. Indust. London (1945), 64, p. 147-148.
Kern W. — Ueber das Vorkommen von Chrysen in Erde. *Helv.* (1947), 30, fasc. 6.
- 2) J. von Wiesner — Die Rohstoffe des Pflanzenreiches — Bd 2, 4. Auflage, 1928.
- 3) Pringsheim E. G. — Wuchsstoffe im Erdboden. *Naturwissenschaften* (1935), 23, p. 197.
- 4) Lwoff A. et Lederer E. — Remarques sur l'extrait de terre envisagé comme facteur de croissance pour les flagellés. *Cpt. rendus Soc. Biol.* (1935), 119, p. 971.
- 5) Bonner J. and Greene J. — Vitamin B₁ and the Growth of Greene Plants. *Bot. Gaz.* (1938), 100, No 1.
- 6) Lilly G. and Leonian H. — Vitamin B₁ in soil. *Science* (1939), 89, p. 292.
- 7) Williams and Spies — Vitamin B₁ — MacMillan Cie, New-York, 1938, p. 381.
- 8) Müller W.-F. — Zur Physiologie von *Mucor ramannianus*. *Ber. Schw. Bot. Ges.* (1941), 51, p. 165.
- 9) Schopfer W.-H. — La question des vitamines considérée comme problème de physiologie générale — *Mitteilungen der Nat. Forsch. Ges. Bern*, 1941.
- 10) Schopfer W.-H. — Plants and Vitamins. *Chronica Botanica* Waltham, Mass. U.S.A., 1943.
Schopfer W.-H. — Les vitamines du sol — de « Perspectives nouvelles dans la chimie des êtres vivants ». *Act. Sc. et ind.* 1073, Hermann et Cie, Edit., Paris, 1949.
Schopfer W.-H. et M.-A. Roulet — *Act. Soc. Helv. Sc. Nat. Zürich* (1946), p. 144 et 145.
Schopfer W.-H. — *Experientia* (1945), 1/6, p. 183 et 1/7, p. 219.
- 11) Carpenter C. C. — Vitamin B₂ in Soil. *Science* (1943), 98, p. 109.
- 12) Hutchinsonson G. E. — Thiamin in lake waters and aquatic organisms. *Arch. Biochem. (U.S.A.)* (1943), 2, p. 143.
- 13) Nielsen N. — Der Gehalt von Pflanzen und Erdböden an Wuchsstoffen, die das Wachstum von *B. Raccicola* fördern. *C. r. Travaux Lab. Karlsberg* (1944), 24, p. 66.
- 14) Roulet M.-A. — Recherches sur les vitamines du sol. *Experientia* (1948), IV/4, p. 149.
- 15) Pastac I.-A. — Méthodologie des recherches agro-chimiques. *Revue générale des Sciences* (1948), 55. No 11-12.

II. Les techniques

1. Les tests

Les tests microbiologiques utilisés dans ce travail sont bien introduits et souvent appliqués ; il n'est plus nécessaire d'en discuter ici les bases théoriques. Nous avons utilisé pour notre travail, le test *Phycomyces* qui permet de doser l'aneurine et le test *Saccharomyces cerevisiae* adapté au dosage de la biotine.

Le test Phycomyces blakesleeanus.

La technique du test *Phycomyces* pour l'aneurine a été développée dans les laboratoires de l'Institut où le présent travail fut réalisé (1). Cette technique est simple et les résultats sont obtenus en dix jours. Nous avons tout d'abord travaillé en erlenmeyers (verrerie de Iéna) de 150 cm³ en mettant 25 cm³ de milieu de SCHOPFER* constitué avec des substances chimiquement pures.

Les poids des thalles obtenus varient entre 5 et 100 mg selon la quantité d'aneurine présente dans le milieu.

La solution nutritive de SCHOPFER se compose de : eau distillée dans le pyrex 1000 cm³ ; asparagine 1 g ; KH₂PO₄ 1.5 g ; MgSO₄ 0,5 g ; glucose 30 g. La vitamine B₁ cristallisée (Hoffmann La Roche, Bâle, Suisse) est donnée en doses croissantes (0,05 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 2 cm³) sous forme de solution aqueuse contenant 0,4 γ/cm³ et 0,2 γ/cm³ de vitamines servant à l'établissement des courbes de référence. Les extraits naturels devront être adaptés à ces quantités qui fournissent les courbes de référence.

Les cultures de base sont faites sur milieu agar au moût de bière. Elles permettent de faire une suspension de spores qu'il n'est pas nécessaire de laver et qu'on utilise directement pour ensemen- cer les milieux synthétiques. La température du local où les cultures se développent ne doit pas excéder 23° C.

Au moment de passer au dosage de l'aneurine dans les terres traitées au Cibazol (Ciba, Bâle, Suisse), nous avons légèrement transformé le test *Phycomyces* pour travailler avec de plus petites quantités de milieu de SCHOPFER mais en gardant la même technique d'extraction. (Petits erlenmeyers pyrex de 50 cm³.) Les courbes standard sont toujours obtenues avec des solutions d'aneurine à 0,4 et 0,2 γ B₁/cm³. Nous ne mettons que 5 cm³ de milieu de SCHOPFER par erlenmeyer ; une compensation est donc nécessaire. Les substances sont ajoutées dans l'ordre suivant : aneurine cristallisée en solution ou extrait naturel 0,05 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 et 1 cm³ ; puis dans chaque erlenmeyer 2,5 cm³ du milieu de SCHOPFER doublement concentré. Pour terminer nous additionnons de l'eau distillée afin d'avoir partout 5 cm³. Cette techni-

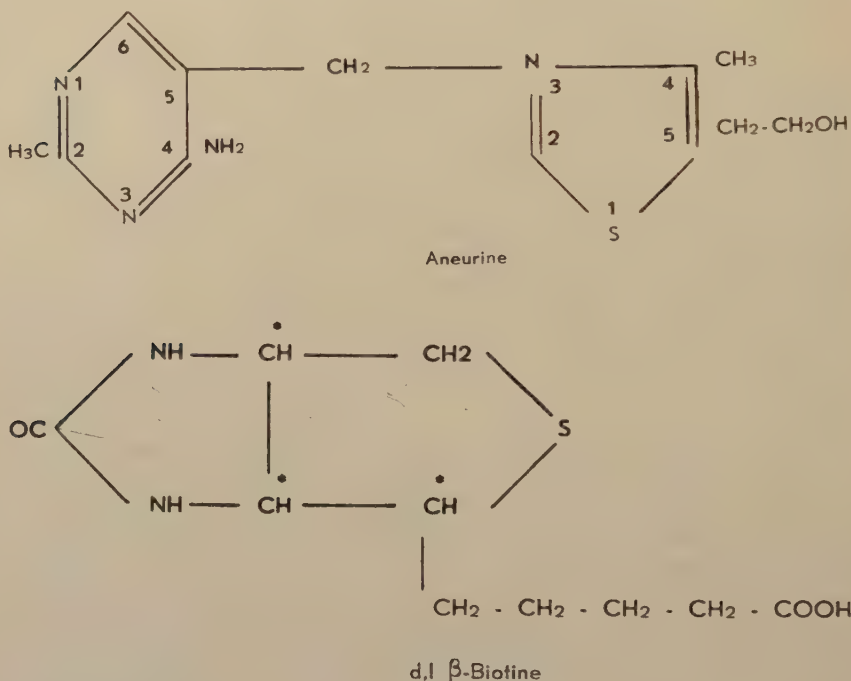
* Milieu de Coon modifié, avec adjonction de vitamine B₁ (G. H. Coon, J. Agric. Res. 1916)

que donne des récoltes ayant un poids sec allant de 0 à 20 mg. Il est important de faire pour chaque point, quatre cultures parallèles.

Le test Saccharomyces cerevisiae.

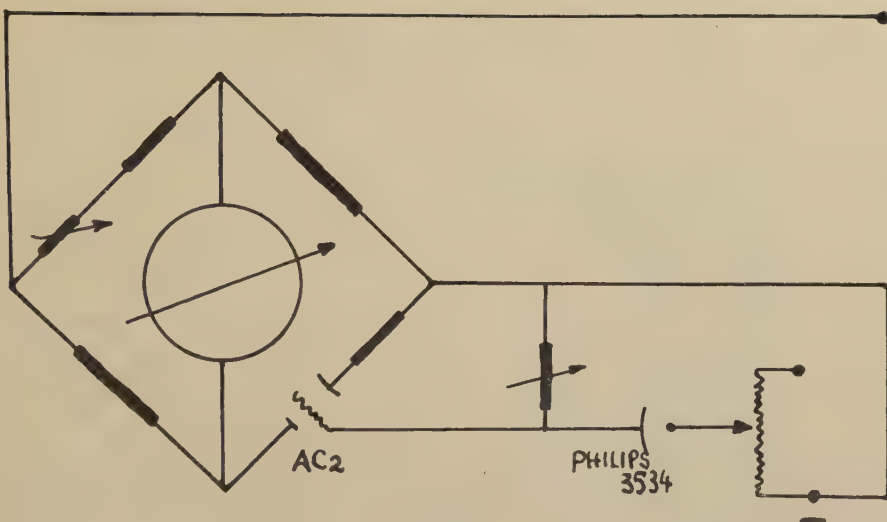
Saccharomyces cerevisiae ne souffre pas d'une seule perte de pouvoir de synthèse. Il requiert pour son développement une constellation de facteurs de croissance. On a donc la possibilité, selon les vitamines données en doses optimales et la vitamine donnée en doses croissantes, de créer des tests spécifiques pour diverses vitamines. Le test que nous avons utilisé pour la biotine est celui mis au point par SNELL (2). Il a l'avantage d'être rapide et sensible. 75 heures de culture à 28° C sont suffisantes pour obtenir des suspensions mesurables par néphélométrie. La mesure néphélométrique est plus rapide que la pesée. On utilise avec profit ce procédé lorsque le matériel s'y prête. La suspension destinée à servir d'inoculat est plus délicate à préparer que celle des spores de *Phycomyces*. Quelques cellules sont prélevées de la souche en tubes sur agar-moût de bière pour être portées dans un milieu très riche où la prolifération est intense. Cette solution nutritive est composée de : saccharose ou glucose 100 g ; sulfate d'ammonium 0,6 g ; KH_2PO_4 1,5 g ; NaCl 0,5 g ; CaCl_2 0,4 g ; FeCl_3 à 1 % 0,5 cm^3 ; moût de bière 30 cm^3 ; eau courante 1 litre. Le milieu est réparti par quantité de 100 cm^3 dans des erlenmeyers de 200 cm^3 . Ce milieu est particulièrement riche en sucre et en facteurs de croissance naturels. Inoculé de quelques cellules à l'aide du fil de platine stérilisé à la flamme, maintenu ensuite à 29° C, le trouble qui s'y forme est dense après 48 heures. On répartit alors le liquide contenant les cellules dans des tubes à centrifuger stériles (130 x 30 mm) à raison de 25 cm^3 par tube. Le milieu est rejeté et remplacé par 25 cm^3 d'eau distillée stérile. Les cellules sont ainsi lavées 3 fois pour être complètement séparées du milieu L₁ contenant les facteurs de croissance. La suspension aqueuse peut être gardée pendant 10 jours à condition d'être déposée après chaque emploi au frigorifique à +4° C. Avec un inoculat frais et soigneusement préparé les contrôles sans biotine restent absolument limpides. L'ensemencement est fait avec 2 gouttes de la suspension. Le test est pratiqué en milieu synthétique stérilisé dans des erlenmeyers de 150 cm^3 contenant 25 cm^3 de milieu. Cette solution nutritive est dénommée L₂. Elle se compose de : Eau distillée 1000 cm^3 ; asparagine 100 mg ; saccharose ou glucose 20 g ; sulfate d'ammonium 3 g ; KH_2PO_4 2 g ; MgSO_4 250 mg ; CaCl_2 250 mg ; acide borique H_3BO_3 1 mg ; ZnSO_4 1 mg ; chlorure de manganèse 1 mg ; sulfate de titane 1 mg ; chlorure de fer FeCl_3 0,5 mg ; CuSO_4 0,1 mg ; KJ 0,1 mg ; vitamines : inositol 5 mg ; alanine 0,5 mg ; aneurine (B₁) 20 γ ; adermine 20 γ ; acide pantothénique 20 γ . La biotine ou l'extrait à doser sont donnés en doses croissantes (0,05 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 2 cm^3). Les courbes standard sont obtenues avec des solutions

aqueuses de biotine contenant $5 \text{ } \mu\text{g}/\text{cm}^3$ et $2,5 \text{ } \mu\text{g}/\text{cm}^3$. Les calculs sont faits comme pour l'aneurine. Au début de notre travail ces courbes de référence ont été établies avec un extrait concentré de biotine de provenance américaine. Au cours de nos recherches il fut possible d'obtenir en ampoules de la biotine de synthèse. C'est donc avec la d-biotine $25 \text{ } \mu\text{g}/\text{cm}^3$ (Hoffmann La Roche, Bâle, Suisse) (3) que nous avons travaillé.



La néphélométrie.

Il existe des dispositifs permettant de mesurer le trouble provoqué par une suspension de petites particules. La dimension des corps composant la suspension joue un rôle et dans certaines limites l'opacité est proportionnelle au nombre des particules présentes. La cellule de Levure se trouve heureusement dans les limites admises. Cette technique permet donc, sans qu'il soit besoin de peser l'organisme, d'estimer la croissance de façon très précise. Les appareils à cellules photoélectriques habituels disparurent du marché pendant la guerre et nous nous sommes vus contraints de construire un appareil répondant à nos exigences. Par la suite il fut possible de contrôler sa précision par comparaison à des appareils très sensibles (électrophotomètre de MEUNIER et de HILGER). (4). La concordance des résultats fut jugée satisfaisante.



GRAPHIQUE 2

2. Les extraits de terre

Notre but étant de doser les vitamines dans le sol, nous avons pour débiter préparé des extraits aqueux à partir de la terre réduite en poudre. La méthode fut premièrement adaptée au test *Saccharomyces cerevisiae* pour la biotine. Puis sans grandes modifications nous avons adapté nos extraits aux exigences du test *Phycomyces* pour titrer l'aneurine.

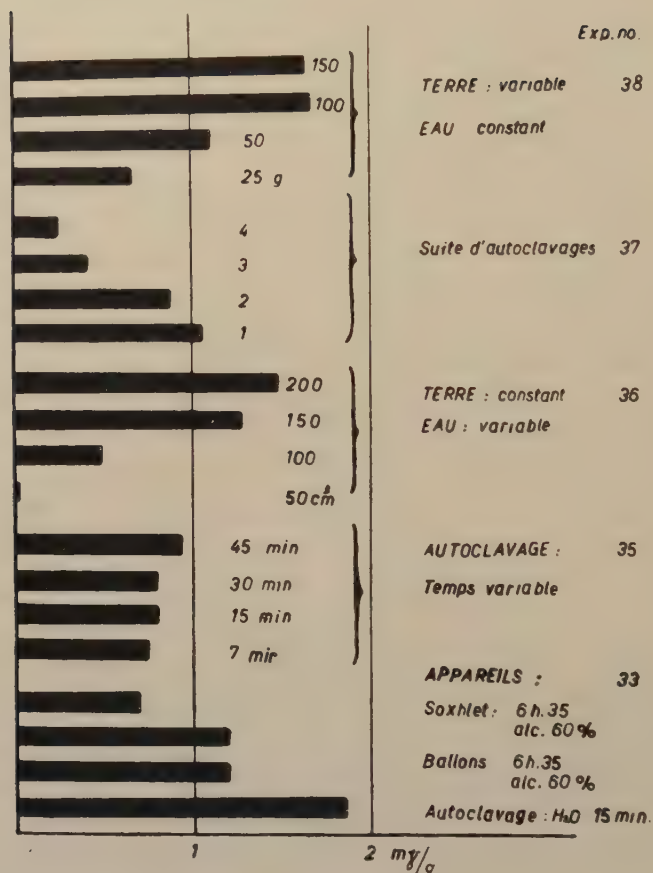
Les échantillons de terre.

La terre brute est soigneusement récoltée sur une section faite dans le sol. Le prélèvement a lieu aux profondeurs désirées (10, 20, 30 et 50 cm). La terre est mise dans des bocaux de $\frac{3}{4}$ de litre, cette quantité suffit pour faire deux fois le dosage. Les bocaux sont immédiatement stérilisés pour empêcher toute action ultérieure des micro-organismes du sol, la terre est ensuite séchée à 90° C. Les échantillons sont à nouveau stérilisés dans les bocaux et gardés jusqu'à l'emploi.

Au moment de faire le dosage la terre est débarrassée des pierres et des déchets organiques qui s'y trouvent ; elle est ensuite pulvérisée au mortier et passée au crible. Le dernier crible est très fin, le treillis utilisé ayant des mailles de $\frac{1}{2}$ mm de côté. La terre ainsi traitée est une poudre très fine. On en pèse 100 g qui seront extraits.

SOL et VITAMINES.

EXTRACTION DE LA BIOTINE. Ech 7 I



GRAPHIQUE 3

L'extraction.

Un des problèmes fondamentaux de la chimie agricole est d'obtenir, pour les analyses, des extraits de sol ayant la concentration correspondant à la quantité de substances dont le végétal peut disposer dans la nature.

Cette notion est assez vague. Une extraction qui épuise la terre n'est pas satisfaisante, la technique ne peut pas être quantitative, dans le sens que la chimie analytique donne à ce mot. Les agronomes utilisent plutôt des méthodes standardisées extrayant la quantité de substances que l'on présume utilisable par le végétal (5).

Ces méthodes sont très minutieuses et l'on utilise surtout des acides organiques faibles, de l'alcool ou HCl dilué. La technique la plus moderne est décrite dans les travaux de LEES qui procède avec des colonnes de terre n'ayant pas été bouleversées avant d'être mises dans un percolateur (6).

Pour nos recherches nous avons suivi la même voie et nous avons décidé de mettre au point une extraction standardisée, n'épuisant pas la poudre.

Le graphique 3 nous apprend que la manière la plus avantageuse de libérer de la terre une quantité moyenne de vitamines est le simple autoclavage de la poudre avec de l'eau (exp. 33). En 15 minutes nous libérons plus de facteurs de croissance qu'en 6 heures 35 d'une extraction pénible et peu précise au soxhlet. Nous avons donc adopté pour le reste de nos expériences ce mode rapide et facile à reproduire. Il n'est pas même nécessaire de prendre une solution alcoolique à 60 %. Les autres expériences démontrent que des autoclavages répétés 1-4 (exp. 37) libèrent des vitamines en doses décroissantes ; il est ainsi prouvé que le premier autoclavage n'a pas épuisé la poudre. Les expériences N° 36 et 38 démontrent qu'il doit exister un juste rapport entre la quantité de poudre exprimée en g et la quantité d'eau exprimée en cm³, pour que l'extraction soit optimale.

Nous avons choisi la relation 100 g de poudre de terre et 150 cm³ d'eau. Ces quantités furent respectées dans toutes nos expériences à l'exception des recherches faites dans des dépôts organiques, le fumier ou les engrais où l'extraction de 12 g est suffisante. Ces exceptions sont toujours mentionnées dans les graphiques et le texte.

La durée de l'autoclavage joue un rôle (exp. 35). Il est pourtant curieux de constater que 7, 15 et 30 minutes donnent des résultats identiques alors que 45 minutes d'autoclavage ne libèrent qu'un peu plus de facteurs de croissance. Dans toutes nos expériences nous avons rigoureusement observé le temps de 15 minutes à 115° C.

Préparation de la solution

Les 130 cm³ provenant de la filtration doivent être réduits à 25 cm³ avant d'être mis en doses croissantes dans les milieux de culture. Cette réduction se fait dans des ballons à distiller de 500 cm³, au bain-marie de 80° C et sous un vide d'env. 700 mm. Notre appareil est conçu pour que 4 extraits de terre, représentant 4 échantillons différents, puissent être préparés simultanément. La forme et la qualité de la verrerie ainsi que le temps employés pour chaque manutention ont été rigoureusement constants.

Tout le travail se fait dans la même journée. Les solutions n'ont jamais été gardées plus de trois heures avant d'être réparties dans les erlenmeyers contenant les milieux de culture. Nous avons 25 cm³

d'extrait à disposition. Ils permettent de faire 2 séries de tests avec 3 cultures parallèles et avec les doses croissantes habituelles de 0,05 ; 0,1 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 et 2 cm³. La vitamine présente dans les extraits ainsi préparés s'y trouve en concentration suffisante pour que l'on puisse comparer les courbes de croissance obtenues avec nos courbes standard.

Ces concentrats de terre ne contiennent pas seulement les facteurs de croissance désirés mais aussi d'autres substances à effet plastique que nous redoutons. C'est à l'azote inorganique et organique que nous pensons particulièrement. La précision du test ne fut heureusement pas trop influencée. Nous avons pu le prouver dans des essais destinés à contrôler la précision de notre méthode.

Extraits de terre faits en présence du Cibazol

Nous avons arrosé une parcelle de terre avec des solutions aqueuses de Cibazol (Ciba, Bâle, Suisse). La terre ainsi traitée fut extraite avec l'eau selon la technique déjà décrite, puis nous avons fait le titrage de l'aneurine et de la biotine. Nous pouvions craindre que le Cibazol incorporé à la terre gêne le test. Dans une première expérience nous avons observé que nos organismes tests ne réagissent que très faiblement au Cibazol. Seules des doses très fortes (8 à 16 mg par culture) de cette substance ont une influence négative sur la croissance.

3. Extraction et dosage de l'aneurine des feuilles de l'épinard

Le dosage de l'aneurine par le test *Phycomyces* peut être fait avec les extraits aqueux de la feuille qu'on ajoute en doses croissantes au milieu de SCHOPFER. Il serait aussi possible de peser directement, dans chaque erlenmeyer contenant le milieu, des doses croissantes de poudre de feuilles. Cette deuxième façon de procéder nous a paru peu pratique et trop pénible, bien qu'elle ait l'avantage de mettre à disposition de *Phycomyces* toute l'aneurine présente dans la feuille. La précision doit être altérée par la difficulté que présentent des pesées précises effectuées à une cadence rapide. Il n'est pas rare de devoir remplir 350 erlenmeyers en un jour. Considérant la durée de nos recherches nous avons préféré adopter dès le début une technique standard utilisant les extraits aqueux.

Nous pesons pour chaque dosage 200 mg de poudre de feuilles bien sèches (80° à 90° C) que nous mettons dans un erlenmeyer de 100 cm³. Nous ajoutons alors 10 cm³ d'eau distillée et nous autoclavons le mélange pendant 15 minutes à 115° C. La vitamine passe dans la phase liquide. Nous filtrons sur le vide. Cette filtration a toujours été effectuée avec la même fiole à vide de 50 cm³ et un filtre de porcelaine de 4,5 cm de diamètre.

Les extraits sont suffisamment riches en aneurine pour qu'on puisse comparer les courbes d'expériences aux courbes standard. Les dosages sont précis et basés sur des comparaisons faites par dosage chimique avec la méthode du thiochrome (7). Les extraits des feuilles d'Epinard ne contiennent pas de substances à action inhibitrice sur *Phycomyces*.

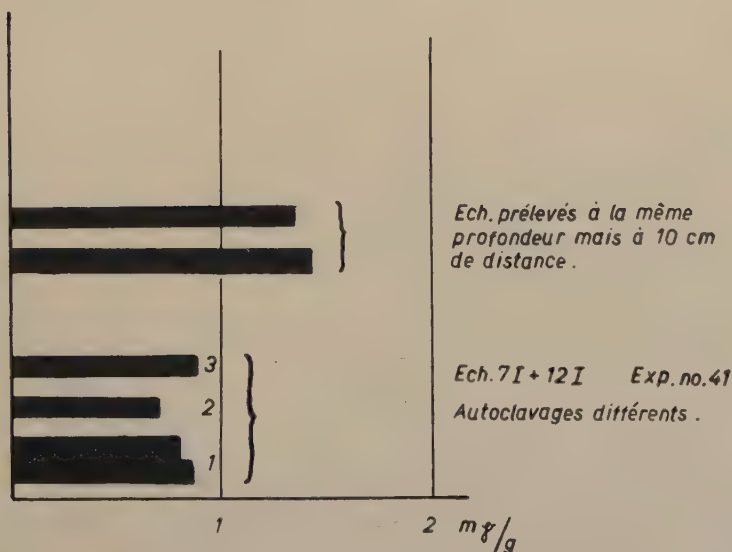
4. Précision des méthodes

La précision avec laquelle les recherches sont effectuées doit être envisagée selon différents points de vue. Il est bon de savoir si les prélèvements de $\frac{3}{4}$ de litre de terre suffisent pour que le résultat représente une valeur moyenne reflétant la concentration en vitamines de la couche envisagée. Nous avons prélevé deux échantillons à la même profondeur et à 10 cm de distance. La différence des deux résultats doit indiquer s'il existe une constance suffisante pour que les variations ultérieures puissent être attribuées à des influences externes. Les résultats d'analyse relatés dans le graphique 4 nous permettent de l'assurer. Une influence néfaste de l'autoclavage était à craindre. L'expérience No 41 prouve que les variations sont minimales, la valeur 2 mise à part, l'erreur est très faible.

SOL et VITAMINES.

PRECISION DE LA METHODE.

BIOTINE



GRAPHIQUE 4

Les tests microbiologiques ont une précision d'environ $\pm 10 \%$. Pour chaque point établi nous avons calculé l'erreur moyenne selon la formule :

$$\pm \sqrt{\frac{\sum (e)^2}{n(n-1)}} \quad (8).$$

$(e)^2$ représente la somme des carrés des différences entre la valeur moyenne (arithmétique) et la valeur de chaque mesure ; n est le nombre total des mesures.

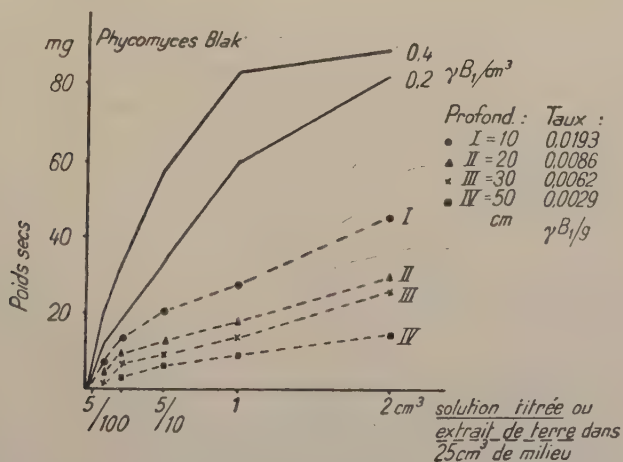
- 1) Schopfer W.-H. et A. Jung. — Un test végétal pour l'aneurine. C. r. 5me Congrès intern. technique et chimique des industries agric. (1936), p. 22.
- 2) Snell, Eakin et Williams — J. Amer. Chem. Soc. (1940), 62, p. 175.
Snell, Eakin et Williams — Univ. Texas Publ. (1941), 18, No 4137.
Welsch — Le dosage microbiologique des vitamines. Masson Paris et Desoer Liège, 1947.
- 3) Grüssner A., J.-P. Bourquin et O. Schnider — Helv. (1945), 28, p. 528 ; Helv. (1945), 28, p. 517 ; Helv. (1945), 82, p. 510.
- 4) Meunier P. — Un électrophotomètre à cellules à couches d'arrêt destiné à la colorimétrie pratique. Bull. Soc. Chimie biologique (1937), 19, No 1.
Williams J.-R. und Mitarbeiter — Nephelometer mit Thermo-elektrischer Ablesung. J. Amer. Chem. Soc. (1940), 62, p. 175.
Lange — Colorimetrische Analyse, 1942.
Kögl F. und B. Tonis — Z. Physiol. Chem. (1936), 43, p. 242.
- 5) Demolon A. — La dynamique du sol. Dunod, Paris 1944.
Wüst — Untersuchungen über den Einfluss verschiedener schweiz. Böden. Diss. E.T.H. Zürich 1940.
Quastel J. H. — Le métabolisme de l'azote dans le sol. Endeavour (1947), 6, No 23.
- 6) Lees H. — The soil percolation technique. Plant and Soil (1949), 1, No 3 p. 221.
- 7) Grob E. C. et W.-H. Schopfer — Untersuchungen über den Thiochromtest und seine Brauchbarkeit für Aneurinbestimmungen im pflanzlichen Material. Helv. Physiol. Acta. (1947), 5, fasc. 1, C 15.
Grob E. C. — Kritische Untersuchung des Thiochromtestes und seine Brauchbarkeit zur Aneurinbestimmung im pflanzlichen Material. Z. f. Vit. Forschung (1947), 19, Heft 1/2.
- 8) Lecomte du Nouÿ — Méthodes physiques en biologie et en médecine. — J. B. Baillière et Fils, Paris, 1933.

III. Les vitamines du sol

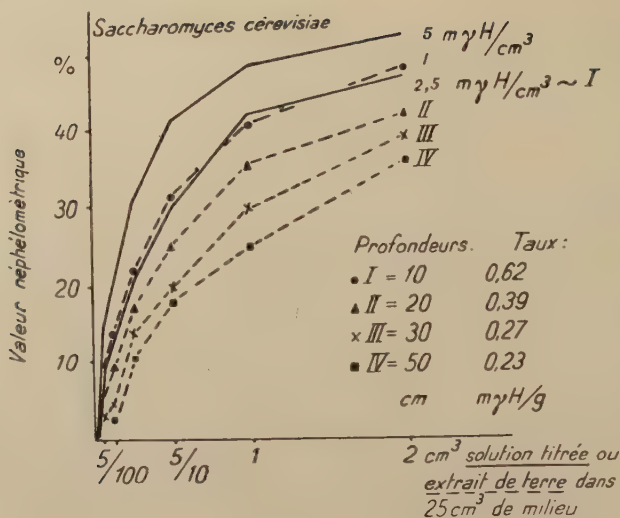
1. La répartition dans le sol de la biotine et de l'aneurine selon la profondeur.

La zone où le végétal pénètre avec ses racines se nomme la rhizosphère. A l'exception des grands arbres, les racines ne pénètrent que peu profondément dans le sol et pour le gazon qui couvrirait le terrain que nous avons étudié, les racines deviennent de plus en plus rares au-delà de 20 cm de profondeur. Nous savons que certains micro-organismes du sol prospèrent de préférence près des racines. La rhizosphère est donc une zone où l'activité biologique, que ce soit celle des plantes supérieures ou des micro-organismes, est activée. Cette activité est aussi conditionnée par l'aération qui fait de cette zone un passage entre un milieu aérobie et un milieu plus ou moins anaérobie. Dans les couches plus profondes, les racines se font rares et même à l'œil nu on voit que le nombre des colonies de micro-organismes diminue. Il est donc justifié de se demander si le passage d'une zone d'activité vitale très intense à une zone de moindre activité peut avoir une répercussion sur le contenu en facteurs de croissance de la terre qu'on y prélève.

L'expérience a démontré que la concentration en aneurine et en biotine diminuait régulièrement selon la profondeur. Tous les graphiques que nous publions au cours de ce travail ont été faits pour 4 profondeurs : 5 à 10 cm, 10 à 20 cm, 20 à 30 cm et 40 à 50 cm. Il semble donc que ce résultat puisse être appliqué à tous les terrains qui ne sont pas remaniés ou qui n'ont pas subi de transformations récentes.



GRAPHIQUE 5



GRAPHIQUE 6

Dans les terrains où ces résultats ne peuvent pas être appliqués rigoureusement, terrains qui font donc exception, nous devons mentionner les dépôts organiques composés des restes du plancton de Gjutia ou d'autres résidus mous d'origine uniquement organique. Ces dépôts sont très intéressants. On y trouve les restes d'une humification lente et incomplète et l'on peut être certain que le fond de ces bassins est composé des déchets d'organismes qui ont vécu il y a des siècles. Ces terrains sont suffisamment tendres pour que l'on puisse prélever à l'aide de la sonde suédoise et jusqu'à une grande profondeur, des échantillons suffisants à la détermination microbiologique des vitamines. Nous avons fait des sondages jusqu'à 9 m. dans la craie lacustre du lac de Moosseedorf près de Berne. Le tableau suivant représente nos résultats.

10 g. de matière sèche contiennent à la profondeur de :

1,1	1,6	2,6	3,3	4,0	5,3	7,0	7,5	8,0	9,0	mètres
1,4	1,9	2,9	3,6	4,3	5,6	7,3	7,8	8,5		
4,79	9,85	1,96	0,42	0,51	1,09	0,65	1,39	0,28	0	mγ biotine
										argile

TABEAU 2

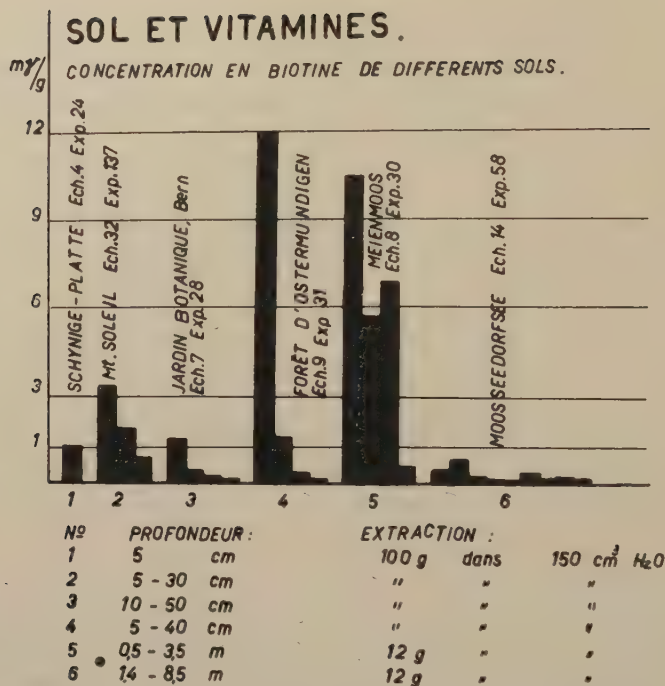
On voit donc qu'après quelques irrégularités qui n'apparaissent pas dans les terres plus sèches, le contenu en biotine de ce

dépôt baisse proportionnellement à la profondeur, et que le contenu en biotine de l'argile qui tapisse le fond du bassin est nul.

Il serait osé de prétendre que l'on détermine après une certaine profondeur des molécules de vitamines qui ont été synthétisées par les organismes du niveau géologique correspondant. Le dépôt est très riche en eau, il est parfois lacuneux, on peut prévoir des infiltrations. Pourtant, lorsque l'on compare les résultats obtenus à des résultats provenant de terres arables, on voit que même à une profondeur de 6 m, après n'avoir extrait que 12 g de substance sèche, l'on obtient une quantité de biotine mesurable à l'aide du test microbiologique. Il faut donc déduire qu'il y a dans ces dépôts, une forte accumulation de vitamines. Cette accumulation n'est possible que par la résistance des vitamines à l'humification toute spéciale de ce dépôt riche en eau et mal aéré. Le problème pourrait être complété par d'autres recherches mettant en jeu des substances fluorescentes diffusant facilement, des analyses chimiques et des analyses bactériologiques. Il serait utile de déterminer à quel niveau l'activité des micro-organismes est arrêtée (1). .

2. *Etude systématique des sols.*

Il est bien certain que l'étude systématique de sols différents est de la plus haute importance. On peut prévoir qu'un sol de forêt a quant aux facteurs de croissance, une constitution différente de celle d'une terre arable ou d'une terre désertique. Il est même probable que dans des champs cultivés, la végétation qui y pousse influence le contenu en vitamines du sol. Il est évident que des dosages devraient être pratiqués pendant quelques années et qu'ils devraient être mis en rapport avec l'alternance des cultures. Nous nous sommes bornés à quelques exemples variés résumés dans le graphique 7.



GRAPHIQUE 7

Nous y voyons deux groupes. Le premier comprenant : une terre peu fertile prélevée à la Schynige Platte, altitude 1950 m, une terre de pâturage recouverte d'un maigre gazon qui ne reçut jamais d'engrais, une terre de plaine prise dans un pré au Jardin botanique de l'Université. De ce premier groupe, c'est la terre prélevée à 1950 m qui est la plus pauvre en biotine. La terre d'un pâturage du Jura frappe par son contenu élevé. Cette terre est très meuble, de couleur brune mais très peu profonde. A 30 cm déjà on touche le roc. Quant au contenu en facteurs de croissance, la terre du Plateau (Jardin botanique) se place entre les deux exemples cités.

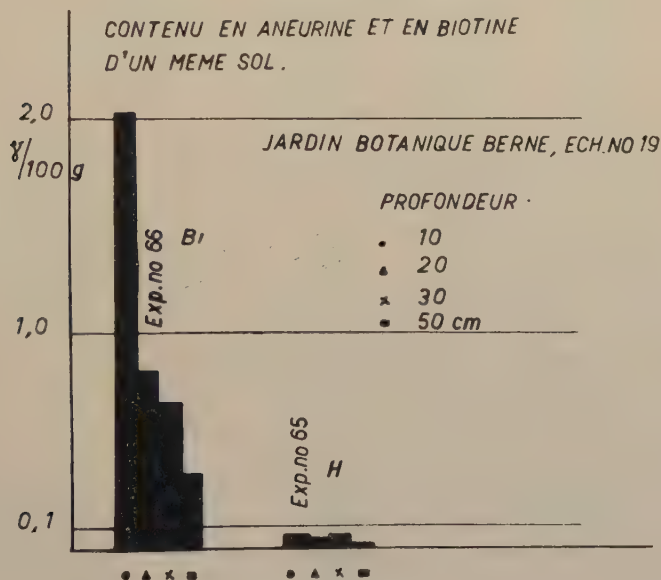
Dans le second groupe, nous trouvons les terres riches en déchets organiques : celles de forêt où les feuilles se sont accumulées et celles des hauts marais composées de *Sphagnum* plus ou moins décomposé ou de craie lacustre riche en Diatomées. Ces dépôts contiennent beaucoup plus de vitamines que les terres du premier groupe. Ce résultat s'explique par la manière dont les extraits ont été faits. Nous avons dû extraire 100 g de poudre sèche de terre alors que dans le second cas, l'extraction de 12 g de matière a provoqué une croissance suffisante de *Saccharomyces cerevisiae*, qui est l'organisme test. De ces résultats nous croyons

pouvoir tirer une deuxième règle générale : les sols riches en humus ou en organismes en décomposition ont une concentration en vitamines plus forte que celle des sols cultivés ou pauvres en végétation.

3. La répartition qualitative et quantitative des facteurs de croissance dans le sol.

Les extraits de sol ont été utilisés dès les débuts de la microbiologie pour être incorporés aux plaques d'agar ou de gélose destinées à nourrir les organismes du sol que l'on voulait isoler ou compter. Il est donc certain que le sol contient la plupart des facteurs de croissance connus et que ceux-ci sont utilisés par les micro-organismes ayant perdu la faculté de faire certaines synthèses. Nous avons dû nous restreindre et ne déterminer que la biotine et l'aneurine. La constellation totale des facteurs présents n'a pas pu être étudiée en détail bien que les tests appliqués dans le laboratoire où nous avons travaillé, aient démontré que des vitamines diverses pouvaient être décelées dans nos extraits.

SOL et VITAMINES.



GRAPHIQUE 8

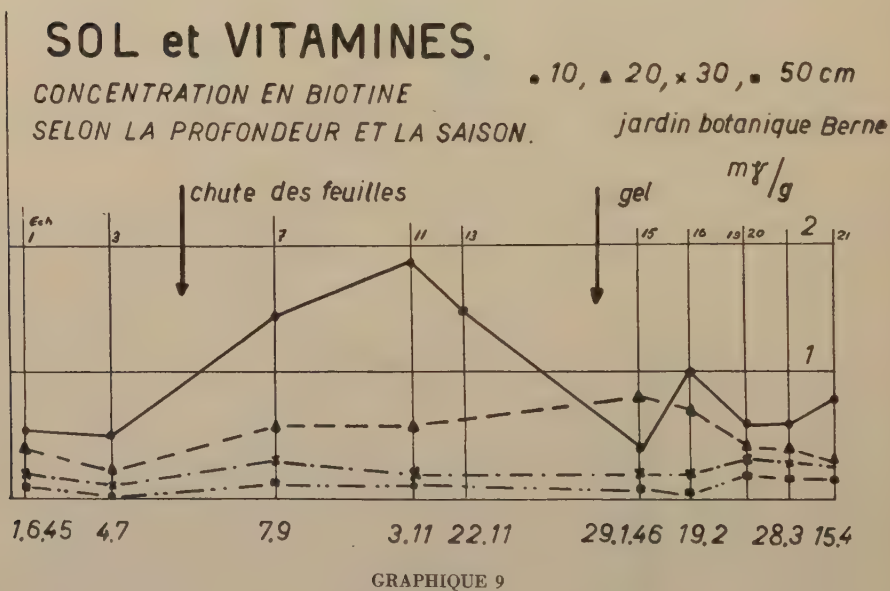
4. Les influences externes sur la concentration en vitamines du sol.

Nous nous sommes demandés en premier lieu si les saisons agissaient sur la concentration en vitamines du sol et si l'adjonction

d'engrais se traduisait par une augmentation ou une diminution de cette concentration.

a) L'influence de la saison.

Dans un terrain désigné et préparé à l'avance, nous avons en rafraîchissant chaque fois la section, prélevé à des moments déterminés, des échantillons de terre en fonction de la profondeur (du 1. 6. 45 au 15. 4. 46). Le résultat de cette expérience est représenté par le graphique 9.



On y voit tout d'abord que la couche supérieure du sol (rhizosphère) subit de plus fortes variations que les couches profondes. En automne par exemple, la chute des feuilles provoque une forte augmentation de la concentration en biotine ; cette concentration baisse avec le gel et retourne à sa valeur initiale peu après. Cet abaissement est même assez fort pour que la deuxième couche à la profondeur de 20 cm ait, à un moment donné (29. 1. 46) une concentration plus élevée. Ce bouleversement inaccoutumé est certainement provoqué par le gel superficiel qui détermine une migration de la microflore et de la microfaune vers une couche inférieure constituant momentanément un milieu

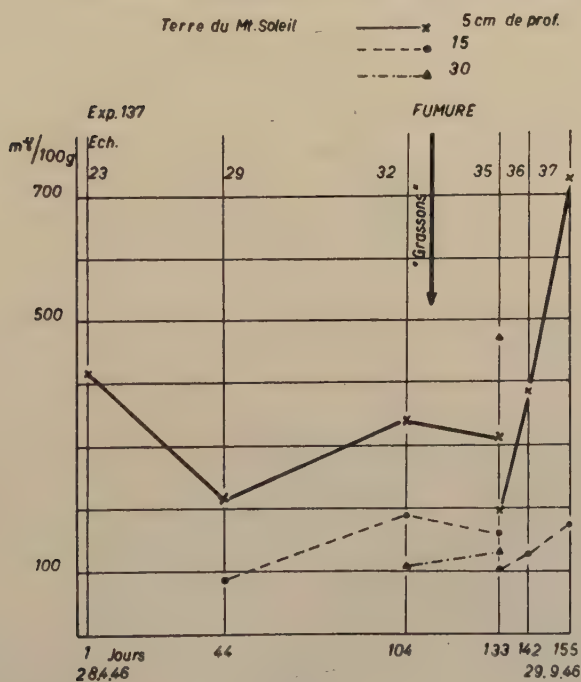
plus favorable à la croissance. La troisième couche suit ces variations avec un certain retard puis l'ordre habituel se rétablit.

b) L'influence de la fumure.

On sait que les fèces contiennent des vitamines. BONNER y dose chez le chat, 0,1 γ d'aneurine par gramme de poids sec. Il est donc fort probable que le fumier de ferme enrichit le sol en vitamines. Cet enrichissement peut avoir deux causes: 1^o la diffusion des vitamines du fumier dans le sol, ce phénomène étant favorisé

SOL ET VITAMINES

Concentration en Biotine du sol après dépôt de fumier de ferme.

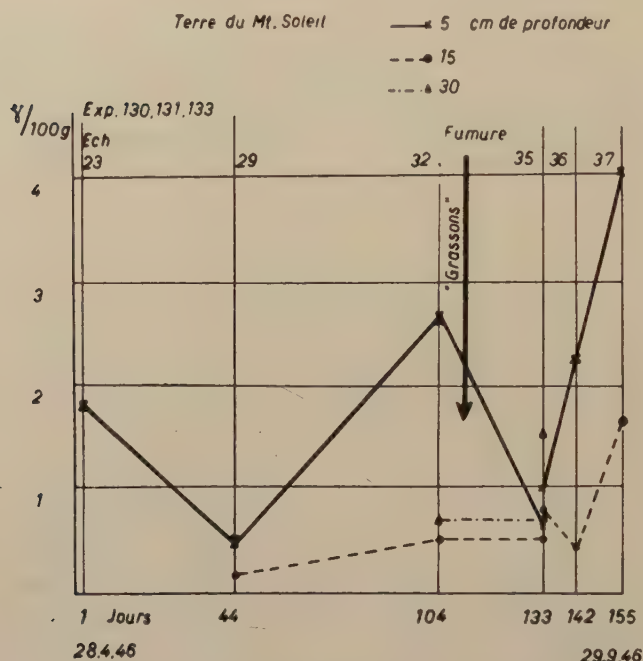


GRAPHIQUE 10

par la pluie, 2^o une action stimulante du fumier sur la croissance de la flore qui synthétise les facteurs. Le fumier est un engrais puissant et dans certaines régions on améliore les pâturages en

SOL ET VITAMINES

Concentration en B₁ du sol après dépôt de fumier de ferme



GRAPHIQUE 11

déposant localement de petits tas de fumier de ferme. La végétation devient luxuriante aux alentours et le bétail trouve un peu plus d'herbe à brouter. Le procédé est appelé dans le langage courant, la méthode des « grassons ». Nous avons appliqué cette dernière à un pâturage qui n'a pas été traité depuis fort longtemps. En prélevant des échantillons avant et après le dépôt, nous avons pu démontrer que l'action du fumier sur la concentration en vitamines de la terre est très forte. La couche de terre fertile qui couvre les pierres du pâturage n'est pas profonde (30 cm environ). L'augmentation en vitamines se fait remarquer tout d'abord dans le fond. Il semble même que la forte concentration du fumier à la surface provoque au début une inhibition, ce n'est qu'après un certain temps que le taux en vitamines augmente. La couche intermédiaire (15 cm) représente une moyenne entre les deux autres couches.

Les déterminations ont été faites pour la biotine et pour l'aneurine dans tous les échantillons. Par simple comparaison des deux graphiques, on voit que le parallélisme est complet. C'est un

très bon contrôle des méthodes. L'action du fumier est aussi forte sur la concentration en aneurine que sur celle en biotine.

c) *Influence d'arrosages avec de l'eau contenant du Cibazol.*

En déposant du fumier sur le sol on obtient un enrichissement en facteurs de croissance dû aux matières apportées. On connaît en microbiologie un grand nombre de substances chimiques bien définies qui provoquent un arrêt de croissance chez les micro-organismes cultivés in vitro ou chez l'homme et l'animal atteints de maladies infectieuses. Les sulfamidés font partie de ce groupe de substances bactériostatiques. Il existe plusieurs produits de synthèse dont le spectre d'action est plus ou moins étendu. Le Cibazol est un représentant typique de ces substances. Il est actif à faible dose et l'on connaît la molécule chimique capable d'agir en antagoniste. Elle a le caractère d'une vitamine. C'est l'acide para-amino-benzoïque (PAB). La stase déclenchée par le Cibazol est l'expression d'un effet antivitaminique (2). Il est fréquent d'observer in vitro que le sulfamidé provoque une légère stimulation sur la croissance, alors que des doses plus fortes arrêtent progressivement la prolifération des colonies.

En complément des expériences que nous avons entreprises et qui sont destinées à mieux connaître le métabolisme des vitamines dans le sol, il était indiqué de faire agir un sulfamidé (Cibazol) dans un terrain naturel où se trouvent une faune et une flore déjà adaptées.

Nous avons choisi un emplacement favorable et l'avons divisé à l'aide d'une plaque d'éternite en deux parties dénommées I et II. Ainsi les diffusions latérales sont supprimées.

Le traitement fait avec le Cibazol consiste en un arrosage périodique du côté I. La date de chaque arrosage est marquée sur nos graphiques par un point. La solution utilisée est composée de 1 g de Cibazol (sel de sodium du sulfanilamide, Ciba, Bâle, Suisse), dans 2 litres d'eau courante.

Les résultats représentés sur les graphiques expriment en γ ou $m\gamma$ la différence entre le terrain traité (I) et le terrain non traité (II). Une valeur positive indique que le traitement a provoqué une stimulation qui s'exprime par une augmentation de la concentration en vitamines dans les extraits alors qu'une valeur négative indique une diminution.

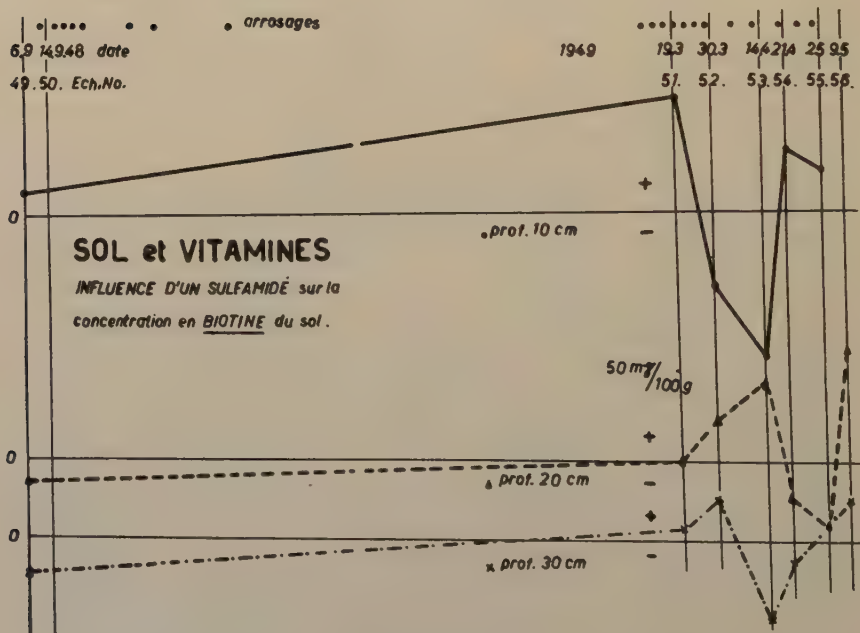
Les terres prélevées avant le traitement (Ech. No 50) prouvent qu'il existe de petites différences entre le terrain I et le terrain II mais les variations dues au Cibazol sont plus fortes et en dehors de la limite d'erreur.

Il convient d'examiner les résultats critiquement. Le premier traitement fait en septembre 1948 est un traitement préliminaire dont l'action fut sans doute faible. Le gel ayant empêché

de faire des prélèvements réguliers, l'interpolation de la courbe jusqu'à mars 1949, date à laquelle l'expérience principale débute, est sans grande valeur scientifique. Dès mars 1949, les arrosages furent très fréquents afin de susciter un choc suffisant (7 g de Cibazol furent administrés en 15 jours).

Dans les couches supérieures, le résultat est immédiat. Après une courte stimulation due à 4 arrosages, la concentration en vitamines baisse rapidement. Cette concentration augmente dès que les arrosages deviennent plus rares. Dans les couches inférieures, le même phénomène se reproduit avec un retard qui est expliqué par la diffusion plus lente et la dilution plus grande de la substance active. La stimulation très nette est suivie d'une inhibition ; la courbe remonte lorsque les arrosages s'espacent.

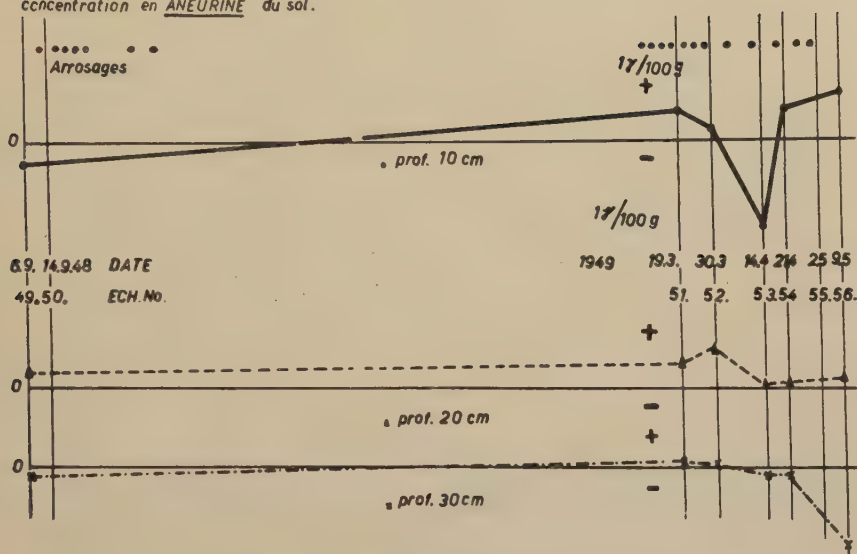
Le fait de doser deux vitamines différentes dans les mêmes échantillons de terre constitue un contrôle et nous sommes heureux de constater qu'un parallélisme existe entre les deux graphiques présentés. Les différences observées pour la biotine sont plus grandes que pour l'aneurine.



GRAPHIQUE 12

SOL et VITAMINES

INFLUENCE D'UN SULFAMIDÉ sur la
concentration en ANEURINE du sol.



GRAPHIQUE 13

QUASTEL (3) cite dans un travail des transformations chimiques dans le sol, influençables par les sulfamidés. Il cite aussi d'autres processus qui ne le sont pas. Nous pouvons donc placer nos résultats dans le cadre du premier groupe proposé par QUASTEL.

Conclusions.

Le problème des facteurs de croissance doit non seulement comprendre le métabolisme interne du végétal, mais aussi celui du milieu où s'observent les équilibres et la métabiose qui déterminent l'écologie du lieu.

Nous avons fait quelques expériences devant préciser ce que peut être le métabolisme des facteurs de croissance du sol et quelles sont les causes qui peuvent provoquer des variations de leur concentration.

La question la plus importante qui est fondamentale, reste toujours la controverse relative à la nutrition de la plante dont s'occupent plusieurs écoles. De nombreuses expériences in vitro démontrent que le végétal peut prélever au milieu des substances organiques et les utiliser.

Nous avons reporté nos taux de vitamines à 1 g ou à 100 g de terre après pulvérisation. Il serait utile d'établir un rapport avec le volume de terre prélevé. On prendrait ainsi en considération la

partie non active du sol composée d'un plus ou moins grand nombre de pierres. Cette relation mettrait mieux en évidence la quantité des facteurs de croissance qui sont réellement à disposition du végétal dans la nature.

1) Fischer — Die Bakterien des Meeres nach den Untersuchungen der Plankton. Expedition unter gleichzeitiger Berücksichtigung einiger älterer und neuerer Untersuchungen. Keel u. Leipzig, 1894.

2) Colloque de Lyon sur les antivitamines. — Bull. Soc. Chimie biologique (1948), 30, No 11 et 12.

3) Quastel — The Chemical Study of Biological Processes in Soil. Congrès des Sc. pastorienues pour le 50me anniversaire de la mort de L. Pasteur, 1945.

IV. *L'influence des facteurs de croissance et des engrais sur la plante supérieure*

Nous avons décrit dans la 1re partie de ce travail ce que les anciennes expériences concernant la nutrition végétale pouvaient apprendre à l'agronome moderne et comment il convenait d'envisager l'avenir.

La méthode dans les recherches pose un problème capital et c'est par la disposition des carrés de culture et par le choix du facteur variable qu'il est possible d'agir sur le résultat. Pour nous, qui travaillons en pleine terre, nous savons qu'une importante fraction nutritive se trouve dans le sol et que tout traitement s'ajoute simplement à la ration de base comprenant des sels inorganiques et d'autres molécules provenant de l'humus. En général on ne varie dans une expérience qu'un composé, par exemple N ou P ou K. Dans notre cas nous avons préféré varier des fractions complètes que l'on peut caractériser comme suit : éléments oligodynamiques (Cu, B, Zn, etc.) éléments plastiques (inorganiques ou organiques) et fraction contenant des facteurs de croissance apportés par des déchets organiques et des arrosages.

Nos dosages ne sont que fragmentaires. La fraction contenant des facteurs de croissance ne peut être caractérisée, pour des raisons pratiques, que par le contenu en aneurine et en biotine. Il s'y trouve naturellement des acides aminés ainsi que d'autres molécules actives en dose minime.

Cette façon de procéder par fraction est bien incomplète mais elle a pourtant l'immense avantage d'être moins restreinte que les méthodes anciennes où seul est envisagé un sel bien défini, dans un sol plus ou moins connu. Une des fractions utilisées peut, lorsque la substance organique s'y ajoute, donner lieu à des synergismes qui sans cela ne pourraient se révéler.

Le nombre malheureusement restreint des espèces et des terrains préparés ne permettra pas de trop généraliser. Comme nous l'avons déjà dit, nous avons fait usage de *Spinacia oleracea*,

plante exigeante ne pouvant être cultivée sur milieu de Knop et de *Solanum lycopersicum* qui vit très bien en milieu minéral. Les observations faites prouvèrent que notre choix fut judicieux.

1. Plan de travail.

Le but proposé est d'étudier l'influence de *trois engrais industriels* et de l'*aneurine* sur la croissance de *Spinacia oleracea* et *Solanum lycopersicum* cultivés en pleine terre. Les engrais en poudre (Ed. Geistlich Fils S. A. Wolhusen, Suisse) sont répandus sur les cultures. L'*aneurine* (Benerva pour horticulture, Hoffmann La Roche, Bâle Suisse) est donnée avec l'eau d'arrosage.

Les plantes sont récoltées pendant la période de croissance et de floraison.

Nous étudions l'effet des engrais sur la morphologie de la plante ; nous nous occupons de l'influence des traitements sur la biosynthèse de l'*aneurine* dans la feuille et nous donnons des détails sur le contenu en vitamine B₁ du sol.

La plante.

Généralités : *Spinacia oleracea* L. est une plante diœcique de la famille des *Chenopodiacees* (1). Elle est annuelle ou bisannuelle, possède une tige droite de 30 à 40 cm simple ou ramifiée. Les fleurs mâles sont réunies en faux épis non feuillés que l'on trouve au sommet de la tige ou dans l'angle des feuilles supérieures. La germination est épipée.

La feuille de l'épinard est un aliment peu nourrissant mais digestible. La plante est cultivée en été ou en hiver. On la trouve jusqu'à l'altitude de 2000 m. La feuille contient en moyenne 2,189 % d'albumine, 0,292 de graisse, 0,058 % de sucre, 2,378 % d'autres substances non azotées, 0,551 % de cellulose, 1,152 % de cendres très riches en fer et 93,380 % d'eau.

Spinacia oleracea nous vient probablement de l'Orient selon A. DE CANDOLLE. La forme sauvage n'est pas connue. Au 15^{me} siècle les Arabes introduisirent ce légume en Espagne. Nous connaissons deux sortes d'épinards. Un grand épinard de Hollande ou épinard d'été dont les feuilles sont atténuées en coins, à la base. Les fruits en sont inermes et presque ronds. Cette sorte est plus délicate et produit moins de graines. L'autre épinard est celui dit d'hiver. Les feuilles sont hastées à la base et le fruit est épineux. Cette plante est plus robuste. Elle supporte le froid. On en sème la graine en automne et récolte la feuille au printemps.

La physiologie de l'épinard.

Partant du principe que chaque espèce du règne végétal a ses propres besoins nutritifs, il est indiqué de rechercher dans la littérature les travaux spéciaux à ce sujet. Les ravageurs de l'épinard ne sont pas nombreux mais les jeunes plantes peuvent être exposées aux attaques de Champignons (*Phytium* et *Rhizoctonia*).

La désinfection du sol s'impose parfois. Les jardiniers considèrent l'épinard comme une plante exigeante aimant l'humus et demandant beaucoup d'azote. Il semble pourtant que l'épinard n'ait pas été utilisé fréquemment par les agronomes, selon L. SCHMITT (2) et A. WETZEL (3) avec des cultures faites en pots de WAGNER contenant 12,3 l de terre, il est démontré que l'épinard réagit bien aux engrais et que l'équilibre azote-potassium est de la plus haute importance. Dans nos propres expériences nous avons vu qu'à l'encontre de la plupart des plantes vertes, la croissance sur le milieu de KNOP n'est que très faible. C'est la meilleure preuve que l'on puisse donner du métabolisme particulier de l'épinard, car par définition les plantes autotrophes à feuillage vert doivent se contenter de ce milieu minéral. Plusieurs auteurs signalent chez l'épinard des déficiences nutritives compensées par l'adjonction au sol d'éléments oligodynamiques. J.-D. HARTMANN (4) donne du bore, WALLACE (5) du Mn. Mais on peut se demander si les facteurs externes influencent plus particulièrement le métabolisme des vitamines. Un milieu favorable enrichit-il l'épinard en vitamines? Une expérience de SCHEUNERT et WAGNER faite sur un sol observé depuis 60 ans a démontré avec un engrais complet (N.P.K.), un engrais organique et un mélange des deux, qu'il n'y avait pas d'action sur le contenu en vitamine B₁ (6). Un autre travail indique que l'épinard mal nourri présente des concentrations plus fortes en vit. A et C (L. SCHMITT).

Etudiant le métabolisme des protéines, CHIBNALL (7) relate que la feuille de l'épinard sert à l'étude des protéines cytoplasmiques et chloroplasmiques des cellules. Il donne un tableau exact des différents acides aminés trouvés dans la feuille. On connaît en détail le contenu en vitamines des feuilles de l'épinard (8) (9).

La graine utilisée pour notre travail.

Les grainiers fournissent la sorte d'épinard *Wikings* qui au dire des jardiniers peut être employée comme semence d'hiver ou comme semence d'été. Un épinard d'hiver peut être semé en été mais un épinard d'été ne peut pas être semé en hiver.

Les graines utilisées sont inermes et la forme de la feuille est à quelques exceptions près, du type de l'épinard d'été. Quelques plantes ont la feuille hastée de l'épinard d'hiver. Ceci laisse supposer que la sélection *Wikings* employée pour notre travail n'est pas absolument homogène. *Le manque d'homogénéité de la semence n'a pas eu d'influence défavorable, car toutes les plantes ont réagi de la même manière aux engrais donnés.*

La germination.

Elle est du type épigé. Nous avons observé un certain nombre de germinations à trois cotylédons. La germination épigée a son importance. De par leur évolution en feuilles verdissant à l'air libre, les cotylédons peuvent être très facilement examinés à chaque

stade de leur développement. Après un certain temps ces feuilles jaunissent puis disparaissent. Notre travail montrera que les cotylédons ont une fonction marquée dans le métabolisme de la vitamine B₁.

Les engrais.

Les engrais mis à disposition par la maison Ed. Geistlich Fils, Wollhusen (Suisse), sont les suivants :

- 1^o No 111, engrais Geistlich (Gartendünger) avec éléments oligodynamiques
- 2^o No 112, engrais Geistlich avec 30 % d'humotine (déchets organiques)
- 3^o No 113, engrais Geistlich enrichi par de la vitamine B₁ synthétique qui fut retrouvée avec le test microbiologique.

No de l'engrais	111	112	113
B ₁ γ /g.	0,059	0,111	0,587
H m γ /g.	0,974	12,560	9,705

TABLEAU 3

Des analyses faites à l'établissement fédéral de chimie agricole, Berne-Liebefeld, ont démontré que l'engrais 111 contient 3,1 % d'azote total, le No 112 3,9 % et le No 113 3,6 %. Ces résultats signifient que nos engrais contiennent une même quantité d'azote.

On voit que l'humotine enrichit l'engrais en vitamine B₁ et en biotine (engrais 112). L'engrais 111 sans humotine est pauvre en vitamines. L'engrais 113 a été amélioré en fabrique par de l'aneurine synthétique. Il est riche en B₁ et pauvre en biotine.

Les vitamines du fumier.

Pour avoir une comparaison, nous avons obtenu dans une ferme, près de Berne, deux échantillons de fumier. Le premier (A) fut prélevé dans la partie inférieure du tas où la décomposition est très avancée. Le second (B) provient d'une couche supérieure qui n'a pas subi de fermentation. Il contient encore beaucoup de paille. Le tableau 4 résume nos résultats.

	A	Exp. No	B	Exp. No
H m γ /g	310,2	147	120,25	147
B ₁ γ /g	0,86	143	0,29	142

TABLEAU 4

Les extraits employés pour l'expérience No 147 étaient brun-foncé et la mesure néphélométrique des cultures fut imprécise. Pour que la valeur soit plus exacte nous avons établi les courbes de croissance en comptant à la cellule de Thomas le nombre des unicellulaires présents dans les cultures. Il est bon de remarquer ici, que les dosages microbiologiques avec des extraits de fumier sont très délicats. Ces extraits contiennent beaucoup de substances biologiquement actives qui peuvent avoir des influences sur la croissance des micro-organismes. Les différences observées entre le prélèvement (A) et le prélèvement (B) sont pourtant suffisamment grandes pour que l'on puisse conclure à une libération ou une synthèse importante de facteurs de croissance au cours de la maturation du fumier.

L'aneurine.

L'aneurine utilisée pour les arrosages est fournie par Hoffmann La Roche, Bâle, sous forme de tablettes dosées à 1 mg (Benerva pour horticulture). Les tablettes sont dissoutes dans l'arrosoir avant l'emploi.

Les cultures.

L'épinard a été cultivé au Jardin botanique de l'Université de Berne pendant l'été 1946. Les conditions météorologiques n'ont pas été notées. Elles furent favorables aux cultures.

Le terrain choisi, environ 30 m², se prête bien à l'expérience. La terre est reposée, elle n'a pas été fumée depuis longtemps et manque un peu d'azote (selon le rapport de l'établissement fédéral de chimie agricole, Berne-Liebefeld).

Plan de culture

Le terrain disponible est divisé en cinq plates-bandes (I-V) identiques de 0,9 x 6,5 m = 5,85 m². Le 28. 3. 46 nous avons ensemencé les plates-bandes de deux rangées de graines Wikings.

- | | |
|-----|---|
| I | = contrôle (pas d'engrais) |
| II | = engrais No 111 |
| III | = engrais No 112 |
| IV | = traitement à l'aneurine |
| V | = engrais No 113 + traitement à l'aneurine. |

Le 8. 4. 46, douze jours après l'ensemencement, les engrais sont distribués à raison d'un kg par plate-bande. Cette quantité représente 170,9 g d'engrais par m² de terrain. La poudre est répandue en surface et légèrement enfouie à la pioche et au râteau.

Le traitement à l'aneurine, identique pour IV et V est plus long,

il s'échelonne sur toute la durée de la croissance. Le tableau ci-dessous en donne le reflet exact :

Age des cultures en jours	Dates (1946)	Eau d'arrosage	Nature de la vitamine	Quantité totale de vitamines
14	10. 4	24 l	(2 mg B ₁ /cm ³) 24 cm ³	48 mg B ₁
16	12. 4	24 l	»	96
20	16. 4	24 l	4 tablettes Benerva	100
22	18. 4	24 l	»	104
28	24. 4	24 l	»	108
34	30. 4	24 l	»	112
36	2. 5	24 l	»	116
41	7. 5	24 l	»	120
44	10. 5	24 l	»	124
47	13. 5	24 l	»	128
54	20. 5	24 l	»	132
58	24. 5	24 l	»	136
62	28. 5	24 l	»	140
65	31. 5	24 l	»	144
72	7. 6	24 l	»	148
79	14. 6	24 l	»	152
91	26. 6	24 l	»	156

TABLEAU 5

Les récoltes

Nous avons récolté les plantes destinées aux analyses à huit dates différentes. Après avoir fait, dans certains cas, des pesées ou des mesures du matériel encore frais, nous avons immédiatement séché les feuilles dans un appareil ad hoc (Furrap D IIa — Horw, Lucerne, Suisse). Cet appareil électrique permet un séchage régulier et doux (environ 80° C.) La matière est bien aérée pendant toute l'opération, il n'y a pas lieu de craindre une carbonisation.

Les feuilles ainsi préparées sont classées et conservées dans des enveloppes. Nous n'y avons jamais trouvé trace de moisissures.

Date de récolte

1	2	3	4	5	6	7	8	No des récoltes
2.5.46	13.5.46	29.5.46	7.6.46	14.6.46	26.6.46	5.7.46	15.7.46	Date
36	47	63	72	79	91	100	110	Age (jours)

TABLEAU 6

2. Action sur la morphologie de *Spinacia oleracea*.

Observations générales concernant les plantes récoltées

Les épinards sortent de terre le 24. 4. 46, vingt-huit jours après avoir été semés.

La floraison (après 79 jours) c'est-à-dire la montée de l'épinard n'a pas été influencée par les engrais ou l'aneurine. A cet âge physiologique l'intérêt pratique du travail diminue car les différences s'atténuent. L'action des produits ajoutés à la terre est très forte pendant la période de croissance mais, après 91 jours de culture, leur effet n'est plus sensible. Remarquons aussi que chaque plate-bande a présenté quelques plantes mâles malingres qui fleurirent prématurément. Notons encore que les plantes cultivées dans la plate-bande contrôle (I) restent chétives pendant toute l'expérience. Les feuilles jaunissent et entrent en décomposition dès le 14. 6. 46. Quelques exceptions mises à part, il n'y a pas de floraison dans cette plate-bande ; l'épinard n'arrive jamais à son développement normal.

Les engrais ont une influence très favorable visible à l'œil nu. Les photographies et les graphiques des chapitres suivants en seront l'expression.

Documents photographiques

Nous avons photographié à chaque récolte une plante de chaque plate-bande. Ces clichés représentent des plantes de grosseur moyenne.

Les photographies prises le 14. 6. 46 après 79 jours de culture et le 26. 6. 46 après 91 jours concernent les inflorescences et la fleur de l'épinard. A ces dates les feuilles comestibles sont déjà jaunes et les différences observées pendant la croissance n'existent plus. (Voir Fig. 1-12.)

Fig. 1

36 jours de culture



Fig. 2

47 jours de culture



Fig. 3

63 jours de culture





Fig. 4, 5, 6, 7,
72 jours de culture





Fig. 8
72 jours de culture



Fig. 9
79 jours de culture.
Seules les inflores-
cences sont
représentées

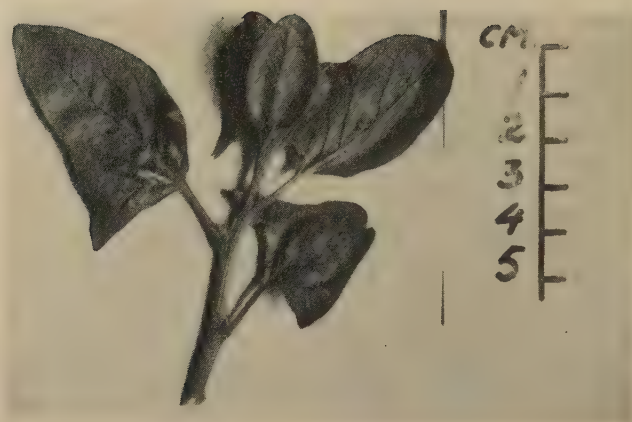


Fig. 10
Inflorescence mâle (détail)

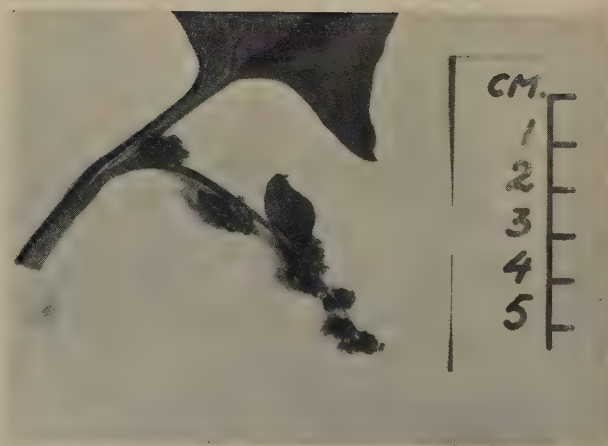
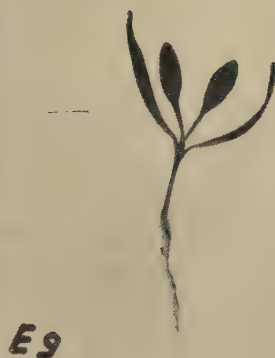


Fig. 11
Inflorescence femelle (détail)

Fig. 12

Plantule peu après la germination.

On y distingue très bien
les cotylédons et la première paire
de feuilles.



L'influence des engrais et de la vitamine sur la croissance de l'épinard.

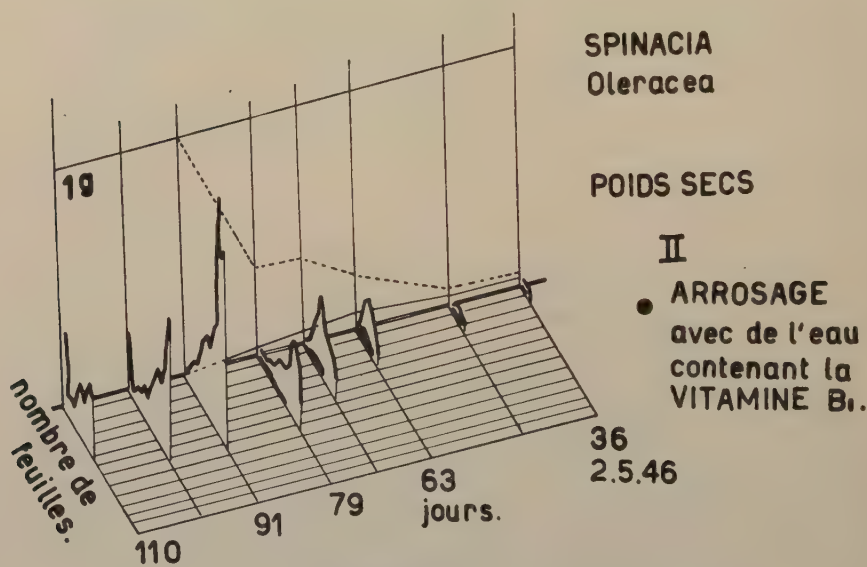
Les feuilles se forment par paire à partir du bourgeon. Les deux feuilles d'une même paire ont la même valeur physiologique et morphologique. Nos résultats sont donnés par paire de feuilles. Nous avons considéré le nombre, le poids frais, le poids sec, la surface des feuilles et le poids total de la plante.

Pour la représentation graphique des résultats, les graphiques tridimensionnels sont utilisés avec avantage. On porte en ordonnée la dimension mesurée, en abscisse la position des feuilles sur la tige (1re paire, 2me paire, 3me paire, etc. comptées à partir du bourgeon) et en profondeur l'âge réel de la plante (date de la récolte). Ce procédé a plusieurs avantages. Il donne une idée d'ensemble de l'expérience et il permet de simplifier le graphique en reliant, après les avoir projetés sur un seul plan, les points maxima que l'on veut mettre en évidence.

Cette dernière possibilité n'est pas à dédaigner, car chaque paire de feuilles se forme, croît et vieillit selon un rythme bien déterminé. En réunissant les points végétatifs par une droite et en traçant à l'autre extrémité de la plante une courbe reliant les feuilles plus vieilles ou en décomposition, il est possible de diviser arbitraire-

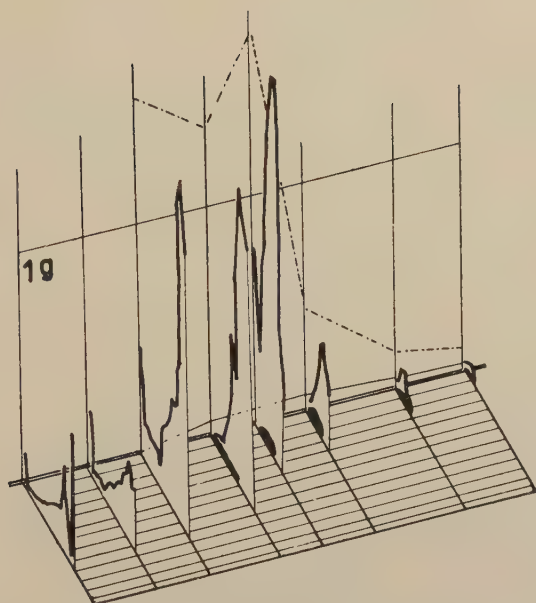
ment la tige en zones de même âge physiologique. Le graphique tridimensionnel permet donc de rapporter nos observations à l'âge physiologique et à l'âge réel de la plante.

A titre d'exemples, nous publions ici les graphiques tridimensionnels concernant le poids sec des feuilles de l'épinard. Pendant l'augmentation du poids due à la croissance, on remarque que le bourgeon produit continuellement de nouvelles paires de feuilles qui s'ajoutent aux anciennes. On voit aussi que la plante atteint, avant de monter en graines, un développement optimal et en comparant les quatre graphiques on se rend très bien compte de la valeur respective des traitements adoptés. Les contrôles (I), représentés dans chaque dessin par la courbe pleine, indiquent quelle est la croissance, dans notre terrain, lorsqu'il n'y a aucun engrais.



GRAPHIQUE 14
Plate bande (I) contrôle et (II) Engrais 111

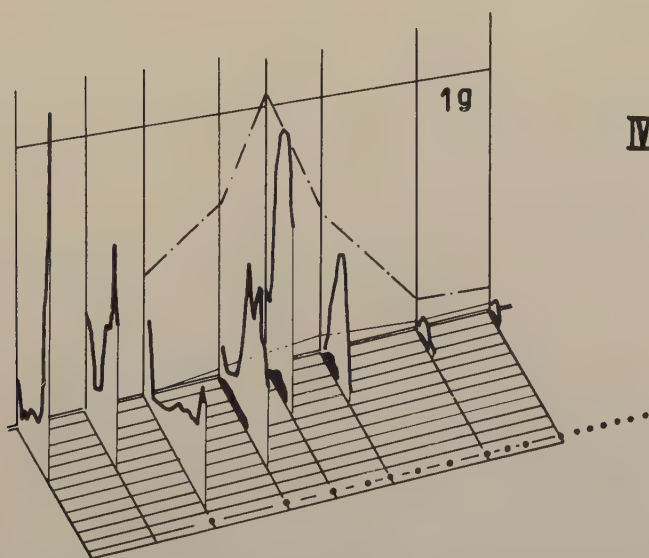
Les graphiques ci-dessous sont, comme nous l'avons dit, la représentation du résultat obtenu par la projection sur un seul plan de points optima. Nous déterminons les caractéristiques suivantes : le nombre de feuilles présent à chaque récolte, le poids sec des feuilles, les surfaces et le poids sec total de la plante. Nous calculons un quotient poids frais, poids sec.



III

GRAPHIQUE 15

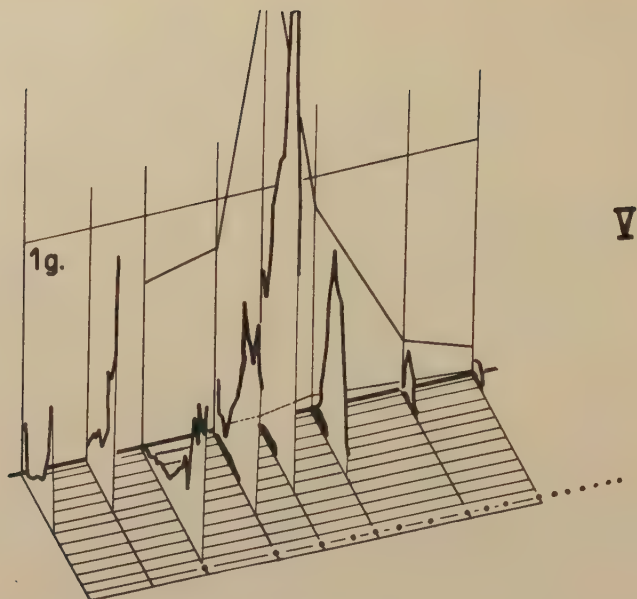
Plate-bande (I) contrôle et (III) Engrais 112



IV

GRAPHIQUE 16

Plate-bande (I) contrôle et (IV) Traitement à l'aneurine



GRAPHIQUE 17

Plate-bande (I) contrôle et (V) Engrais 113 + traitement à l'aneurine

Le nombre de feuilles.

Les engrais et l'arrosage à l'aneurine favorisent la croissance de la plante. Le bourgeon forme, pour une même durée de culture, beaucoup plus de feuilles que chez les plantes contrôles. Le nombre des feuilles est un facteur important. Il nous renseigne sur la rapidité avec laquelle la plante croît, sur le moment où il ne se forme plus de nouvelles feuilles et, en partie, sur la valeur maraîchère de l'épinard.

Le graphique 18 permet les constatations suivantes :

Le contrôle (I) reste chétif ; le maximum est atteint après 79 jours de culture. Dès cette date la plante entre rapidement en décomposition.

Avec l'engrais 111 (II) nous remarquons au début une rapide accélération. Après 79 jours la plante reste stationnaire.

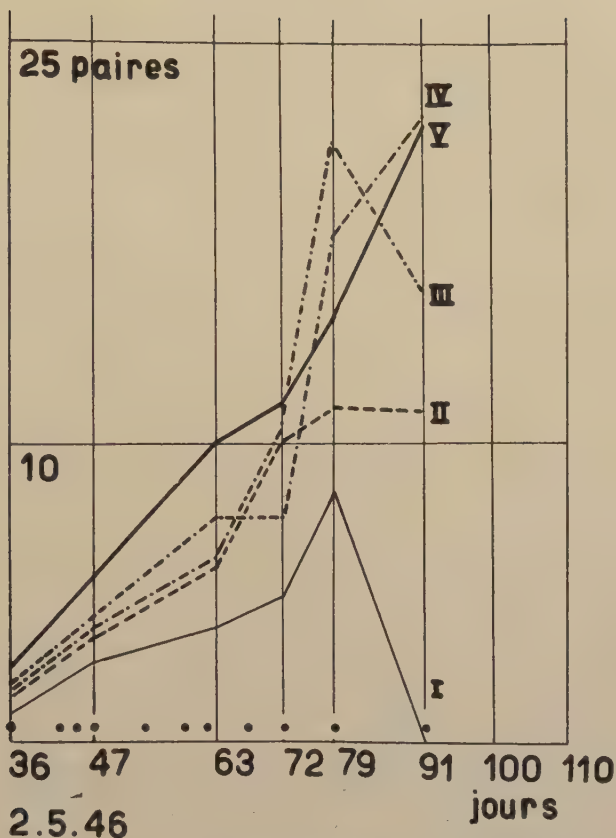
Avec l'engrais 112 (III) la croissance est très forte et le maximum atteint après 79 jours dépasse celui de II.

Le résultat du traitement avec de l'aneurine dans l'eau d'arrosage (IV) étonne. En plus de la forte croissance du début, la formation des feuilles continue jusqu'au 91^{me} jour.

La courbe qui représente l'activité du traitement V est parallèle à IV. C'est la courbe la plus régulière. L'effet de ce traitement est constant pendant toute la période de croissance.

SPINACIA
Oleracea.

nombre de
feuilles.



GRAPHIQUE 18

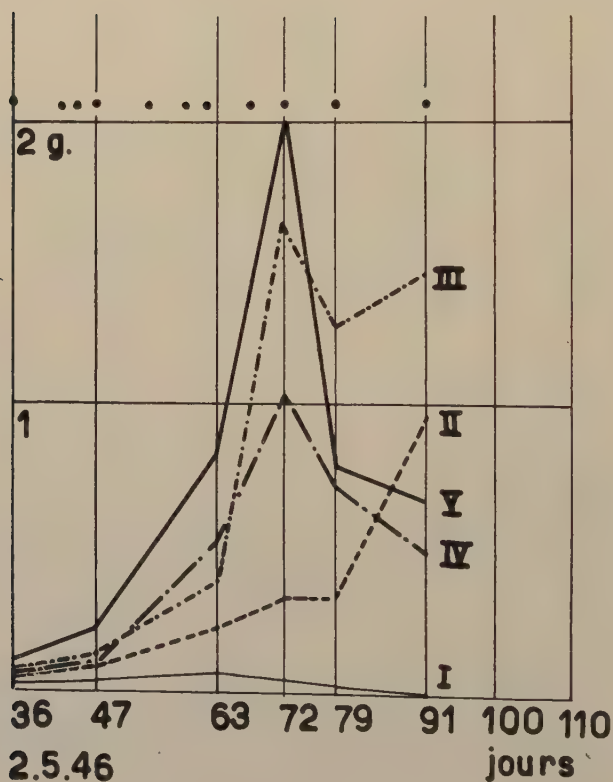
On voit sur ce graphique la réunion de toutes les courbes. Elles représentent l'action des 5 traitements adoptés. Les points noirs indiquent la fréquence des arrosages au Benerva. Plate-bande IV et V.

Le poids sec des feuilles.

Le poids de la matière sèche formée par la plante (graph. 19) montre si l'assimilation est bonne et si le sol contient assez de substances nutritives. Un bon engrais doit augmenter le poids sec de la plante. Les plantes contrôle atteignent leur maximum après 63 jours. Pour les autres traitements, le maximum de poids se trouve à la même date (72 jours de culture). La courbe II a une tout autre allure. L'augmentation pondérale semble vouloir continuer. Les plantes ne sont pas arrivées à un développement total en 91 jours.

SPINACIA
Oleracea.

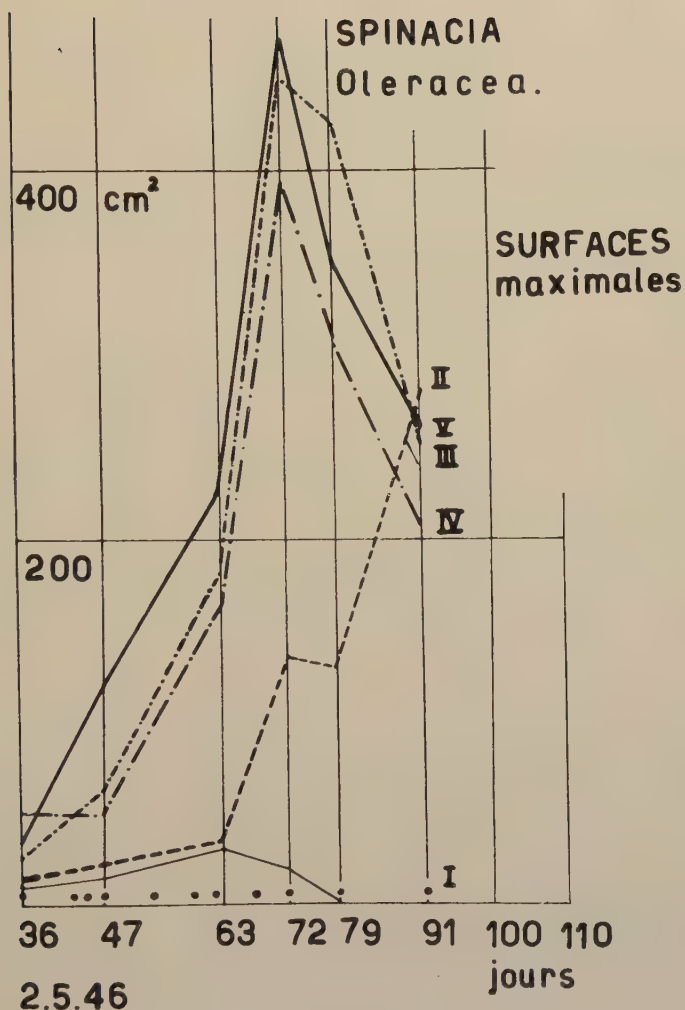
POIDS SECS
maximal.



GRAPHIQUE 19

La surface des feuilles.

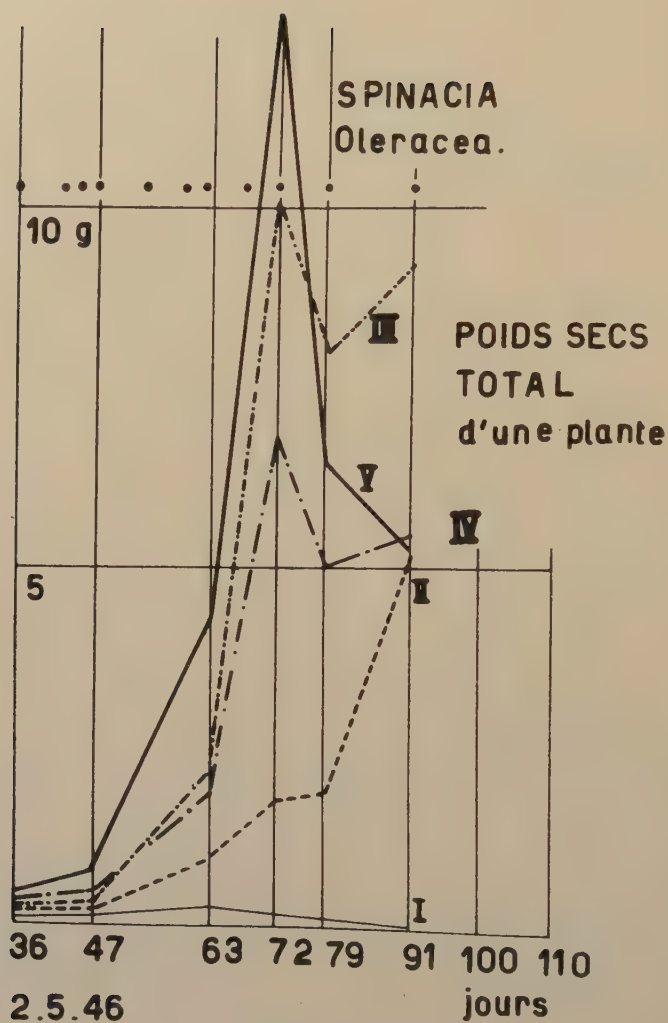
Les feuilles s'élargissent en proportion du poids sec. Le graphique qui en résulte a le même aspect que celui représentant l'évolution du poids (graph. 20).



GRAPHIQUE 20

Le poids sec total d'une plante.

Il convient de terminer par la représentation graphique du poids sec total des feuilles comestibles d'une plante (graph. 21). Les courbes ont la même forme que les précédentes. Elles permettent la classification de la valeur des traitements appliqués.



GRAPHIQUE 21

Le rapport $\frac{\text{poids frais}}{\text{poids sec}}$

Les cotylédons ont un quotient de :

Récolte	I	II	III	IV	V
13.5.46	7,5	8,47	10,52	11,45	14,34
29.5.46	—	—	10,03	10,53	13,68

TABEAU 7

Les résultats exprimés (moyenne de 4 plantes) par ce tableau prouvent que les plantes d'épinard traitées ont un quotient élevé. Les feuilles sont donc plus succulentes lorsque le sol est riche en éléments facilitant la croissance. Pour les cotylédons, le quotient est bas. Rien d'étonnant à cela, car ces feuilles sont pauvres en eau mais riches en substances de réserve de poids sec élevé. Les chiffres optima cités se rapportent toujours à des feuilles ayant un âge physiologique avancé ; on les trouve au bas de la tige.

Discussion des résultats.

Les contrôles qui poussent dans une terre brute, pauvre en azote, ne présentent pas de symptômes typiques comparables aux chloroses ou aux déficiences en substances plastiques des plantes supérieures.

La plante est malingre. Un épanouissement normal est impossible.

Dans les plates-bandes traitées, l'épinard croît de façon satisfaisante. L'effet des engrais et de l'aneurine se remarque par le nombre des feuilles formées à partir du bourgeon et par le poids sec et la surface des feuilles. Il est important de souligner que la croissance reste harmonieuse. Toutes les particularités morphologiques de la plante sont exaltées simultanément.

Pour illustrer de façon succincte nos résultats, nous proposons deux relations importantes.

$$1) \quad \frac{\text{Nombre de feuilles formées}}{\text{Durée de culture en jours}} = N_1$$

On mesure ainsi l'accélération de la production de feuilles. Le quotient N_1 varie au cours du développement. Plus le chiffre obtenu est grand, plus l'accélération est forte. Les quatre traitements obtenus nous distinguons deux groupes. Le 1er est composé de l'engrais 113 contenant de la vitamine synthétique et du traitement par arrosage à l'aneurine (IV). Le second groupe comprend l'engrais inorganique 111 (II) et l'engrais enrichi par l'humotine 112 (III). Dans ce dernier (graph. 22) l'engrais contenant de l'humotine est supérieur.

Le second facteur adopté est comparable au facteur d'activité introduit dans la science des engrais par MITSCHERLICH. Nous adaptons ce facteur aux besoins de notre travail en divisant le poids total d'une plante, après soustraction du contrôle, (rendement) par la quantité d'engrais mise à disposition.

$$\frac{\text{Rendement en g}}{\text{Engrais en g}} = N_2$$

La valeur N_2 indique de quelle manière les plantes réagissent à un traitement. N_2 est donc un facteur d'activité. Le chiffre est élevé lorsque, avec une petite quantité d'engrais, on obtient un fort rendement. L'engrais le plus avantageux est celui qui donne le facteur d'activité le plus élevé. Pour notre travail le classement sera le suivant dans l'ordre décroissant :

- 1° Engrais 113 + arrosage avec B_1 (culture V)
- 2° Engrais 112 contenant de l'humotine (culture III)
- 3° Engrais 111 avec catalyseurs minéraux (culture II)

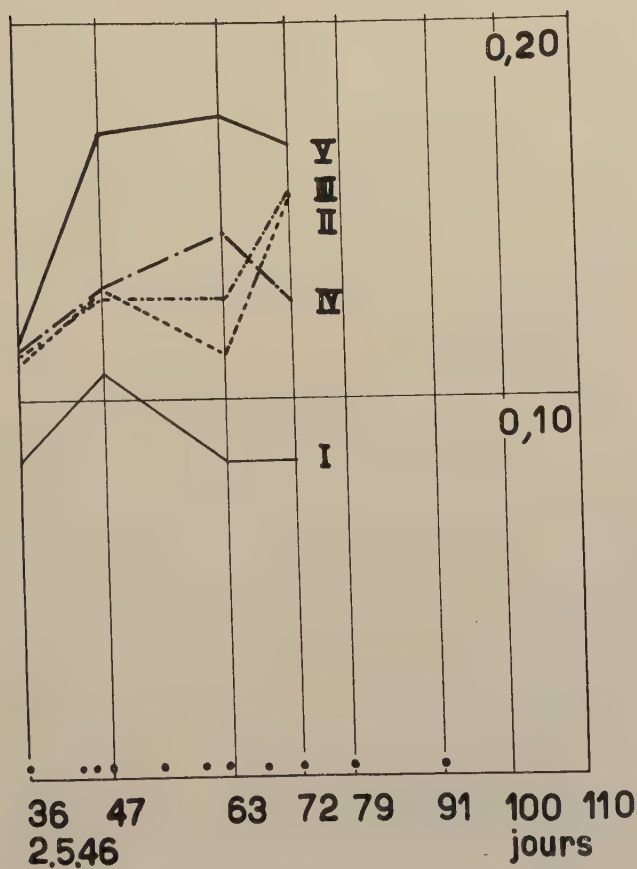
Les très petites doses d'aneurine ajoutées par arrosage au sol dans le traitement IV ont provoqué une croissance étonnamment forte. Le facteur d'activité est de ce fait très élevé. La courbe représente d'une manière frappante l'importance des arrosages vitaminés. L'épinard réagit à la vitamine B_1 . Il semble que dans notre cas avec le sol utilisé, la vitamine B_1 est un facteur limitant.

La représentation graphique du facteur d'activité a été faite avec le logarithme du chiffre obtenu (graph. 23).

SPINACIA

Oleracea.

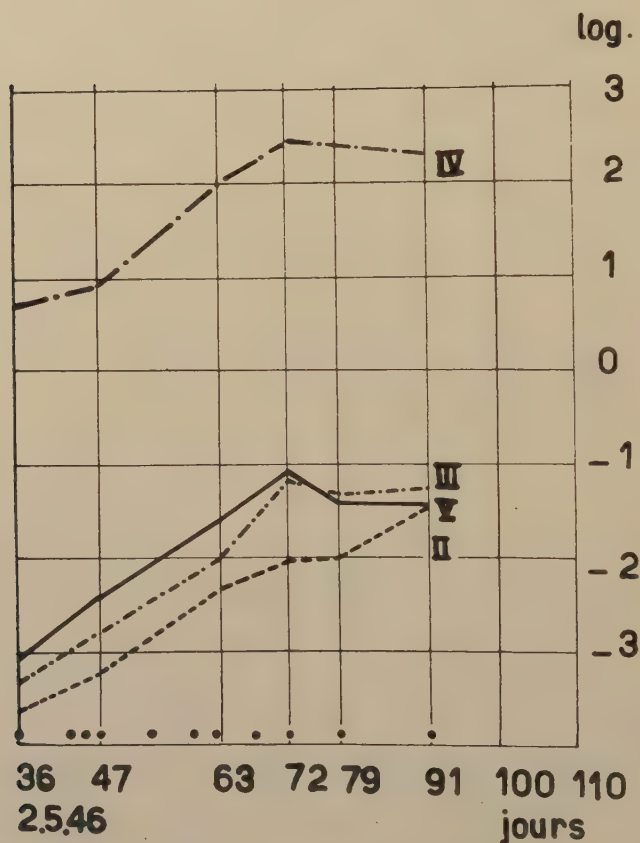
accélération



GRAPHIQUE 22
Variations du Facteur N₁

SPINACIA
Oleracea.

Facteur d'activité.



GRAPHIQUE 23
 Variations du Facteur N₂

3. *Action des divers traitements sur la morphologie de Solanum lycopersicum.*

Les plants de tomates utilisés sont appelés « Marti's carnososa ». La plante est cultivée à partir de la graine, tout d'abord dans des pots et en couches puis en pleine terre. Les engrais sont ajoutés dans les pots et ensuite à la terre.

Les traitements adoptés sont les mêmes (I à V) que pour l'épinard mais la tomate réagit bien différemment. D'une part l'aneurine n'a pas d'effet marqué mais, d'autre part, l'engrais avec humo-

tine (III) favorise la croissance et agit mieux que l'engrais composé de substances inorganiques (II). Cette expérience a son importance dans le cadre de notre travail. Les traitements étant les mêmes que pour l'épinard, les cultures ayant été conduites dans le même terrain et en même temps, il est démontré que la réponse attendue peut être diamétralement opposée lorsque l'on considère deux espèces différentes.

Le côté positif du résultat réside dans le fait que par comparaison des deux cultures on a la preuve que nous avons bien mesuré l'action des traitements adoptés. Il est peu probable que précisément où se trouvaient les cultures d'épinard qui réagissent au traitement à l'aneurine, le terrain ait une autre constitution qu'à la place où étaient plantées les tomates qui restent indifférentes.

Prenons en considération la hauteur de la plante le 7. 10. 1946.

Nous pouvons classer les engrais de la façon suivante :

1° III = engrais 112	180 cm de hauteur
2° V = engrais 113	159 cm de hauteur
3° II = engrais 111	154 cm de hauteur
4° I = contrôle	132 cm de hauteur
5° IV = aneurine	115 cm de hauteur

TABLEAU 8

L'engrais organique agit plus fortement que les autres. Au début de la croissance nous avons fait une observation digne d'intérêt. Il nous a semblé que les plantes poussant avec adjonction d'aneurine, avaient la base de la tige plus ferme. Nous avons cherché à nous rendre compte s'il ne s'agissait que d'une turgescence plus grande ou si, au contraire, la structure anatomique était modifiée. Des coupes observées au microscope ont montré les faits suivants :

	1	2	3
I	248	540	1040
II	222	600	1120
III	252	590	1020
IV	320	820	1280
V	341	733	1183

Des coupes faites sur une autre partie de la tige donnent :

I	200	500	933
II	250	700	1100
III	230	920	1240
IV	275	850	1200
V	300	950	1325

1 = épaisseur du collenchyme
 2 = épaisseur du cambium et du xylem
 3 = épaisseur de l'écorce jusqu'au xylem
 Les valeurs sont exprimées en μ

Chaque chiffre représente la moyenne de 5 coupes.

TABLEAU 9

On voit sur ce tableau que les tissus de soutien sont mieux développés pour les engrais III, IV et V. Les coupes ont été faites dans des tiges prélevées le 16. 5.46. Les graines avaient été mises en terre le 15. 4. 46.

Nous n'avons pas exploité les résultats obtenus avec la tomate comme nous l'avons fait pour l'épinard. Dès le début nous avons pu constater que cette plante n'était pas favorable à nos recherches. Ce chapitre a été volontairement restreint.

Conclusion.

La comparaison de cultures faites en pleine terre selon cinq traitements différents avec *Solanum lycopersicum* et *Spinacia oleracea* peut démontrer quelle est la réponse d'un végétal à des substances ajoutées à son milieu.

Le terrain brut ne donne pas de récolte satisfaisante. L'adjonction d'un engrais inorganique avec catalyseurs minéraux (II) améliore la récolte mais l'engrais avec humotine (III) se révèle être supérieur dans les deux cas. Un engrais inorganique de composition différente du premier, enrichi avec de la vitamine B₁ synthétique (V) donne pour les deux plantes choisies une récolte optimale. Nous déduisons de ces résultats que l'engrais contenant une fraction organique, l'humotine, est un engrais bien équilibré et propice aussi bien à *Spinacia oleracea* qu'à *Solanum lycopersicum*. L'engrais inorganique spécial avec adjonction de vitamine B₁ synthétique agit très fortement sur les deux plantes. Cette action peut être partiellement expliquée. Dans le cas des cultures d'épinard, nous savons, grâce à la plate-bande (IV), que l'aneurine en arrosages agit. Cette vitamine devait manquer au milieu car son apport a complété la ration nutritive. La plante n'a pourtant pas atteint la grosseur de celles traitées avec des substances plastiques ou de la vitamine sous forme naturelle, donc mêlée à d'autres substances organiques. L'aneurine de l'engrais 113 (V) a un effet synergique avec les substances plastiques. On obtient ainsi la croissance la plus forte.

Pour *Solanum lycopersicum* un synergisme entre les constituants plastiques de l'engrais 113 et la vitamine B₁ donnée par arrosages ou mêlée à l'engrais, ne doit pas être exclu.

Solanum lycopersicum est une plante moins exigeante que l'épinard. Chez ce dernier nous pouvons constater des déficiences qui doivent être compensées par un milieu plus complexe. A cet égard, la substance organique, telle que l'humotine, joue un grand rôle. Dans cette fraction organique les vitamines ont leur importance, et c'est plus spécialement la vitamine B₁ que nous devons considérer. L'action de cette vitamine se révèle plus forte lorsqu'elle est combinée à l'action plastique de sels inorganiques. Le simple arrosage vitaminé peut avoir une influence dans certains terrains mais il ne remplace en aucun cas une adjonction parallèle d'éléments plastiques.

Nous sommes persuadé que le problème si controversé de l'influence des vitamines sur les végétaux verts ne peut pas être résolu par des expériences simplifiées. Il doit être considéré comme un complément des résultats acquis précédemment en matière d'amélioration foncière par l'emploi de sel minéraux et de fumier de ferme.

1) Dr G. Hegi — Illustrierte Flora von Mitteleuropa — Munich, Verlag J.-F. Lehmann.

2) Schmitt L. — Die Ernährung der Pflanze (1939), 35, Heft 12.

3) Wetzel A. — Die Ernährung der Pflanze (1942), 38, Heft 11-12.

4) Hartmann J.-D. — Proc. Amerc. Soc. Hort. Sci. (1937), 35, 518-528: (1938).

5) Wallace — The diagnostic of mineral deficiencies in plants. London, 1943.

6) Scheunert et Wagner — Ueber den Einfluss der Düngung auf den Vit. Gehalt. Biochem. Z. (1939), 303, p. 266.

7) Chibnall A.-C. — Protein metabolism in the plant. New Haven — Yale University Press 1939.

8) Schopfer W.-H. — Plants and Vitamins. Loc. cit

V. Le métabolisme de l'aneurine chez *Spinacia oleracea* cultivé dans des milieux différents.

Nous avons soigneusement mis de côté, par paire, les feuilles sur lesquelles diverses mesures avaient été pratiquées. Ces feuilles conservées à l'état sec furent extraites avec de l'eau et nous avons dosé microbiologiquement l'aneurine de ces extraits aqueux (*Phycomyces*). Nous avons suffisamment de matériel pour faire des essais de dosages dans chaque paire de feuilles, bourgeon y compris, sans jamais mélanger des plantes provenant de plates-bandes différentes ou n'ayant pas été récoltées à la même date. Comme précédemment nous avons construit des courbes tridimensionnelles. On peut à volonté les simplifier en projetant les points à mettre en évidence dans un seul plan. Les variations provenant de l'âge peuvent être prises en considération puisque nous avons fait 8 récoltes.

1. Observations générales.

Avant de discuter l'évolution du taux en aneurine des feuilles au cours de la croissance, nous devons envisager quelques faits généraux qui s'observent dans toutes les plantes, quel que soit le terrain.

Nous considérons tout d'abord la concentration en vitamine B₁ de la graine au repos. Pour la sorte « Wikings » que nous avons semée nous trouvons avant la germination 2,84 γ d'aneurine par g. Au début de la formation de la plantule, au moment où les cotylédons sont bien développés et bien verts, nous observons la

plus forte concentration en aneurine de tout le cycle vital, c'est-à-dire 41,7 γ /g.

Ce taux élevé est dû à une synthèse et non à une accumulation. Nos expériences ont prouvé que des graines ayant germé dans le sable, milieu dépourvu d'aneurine, atteignent un taux en vitamines du même ordre de grandeur. On peut donc supposer que les précurseurs chimiques sont dans la graine et que la synthèse a lieu dès le début de la germination.

La forte concentration en vitamines des cotylédons baisse rapidement. Chez les plantes plus âgées, la distribution de la vitamine B₁ est toute différente. Ce sont les jeunes feuilles, près du bourgeon qui présentent la concentration en vitamine la plus forte. Les feuilles inférieures donnent à l'analyse des résultats plus faibles. Cet état est définitif. Le graphique 24 présente les résultats obtenus pour des plantes âgées de 36 et de 72 jours. Après 36 jours, nous trouvons la concentration la plus forte dans les cotylédons, après 72 jours dans le bourgeon. Les chiffres cités ci-dessous démontrent, en complément du graphique, que ce sont bien les feuilles jaunies ou en décomposition, qui, après 72 jours de culture, ont la plus faible concentration en aneurine.

1er exemple	1	2	3	4	5	6	7	paires
	18,5	7,35	5,15*	3,5**	—	—	—	γ /g
2me exemple	11,8	9,95	9,0	7,3	6,2	3,4*	1,1**	γ /g

* feuilles jaunies

** feuilles en décomposition

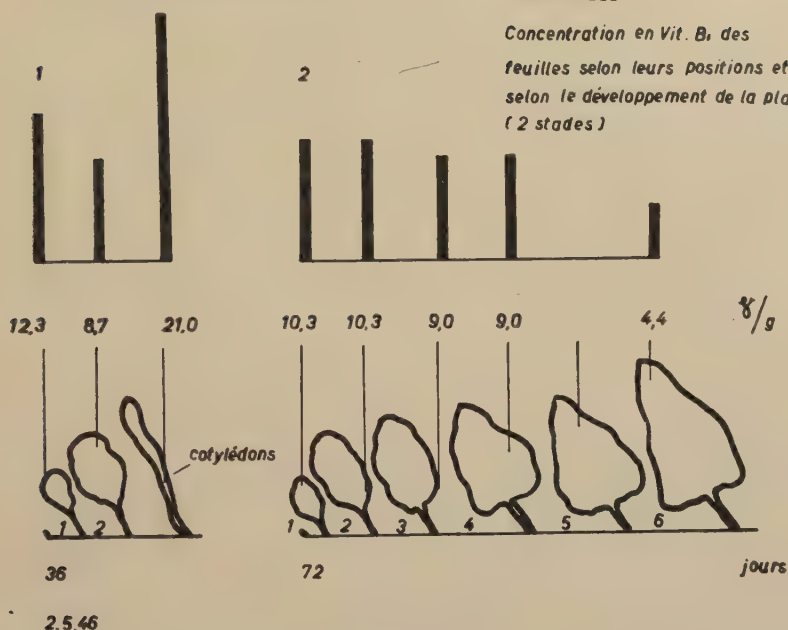
TABEAU 10

Un bilan complet ne peut pas être établi en considérant seulement la concentration en vitamine de la feuille. Notre plan d'analyse permet de calculer le contenu total de la feuille puis celui de toute la plante, car nous connaissons la concentration en vitamine et le poids de toutes les feuilles.

SPINACIA Oleracea.

BIOSYNTHESE

Concentration en Vit. B₁ des
feuilles selon leurs positions et
selon le développement de la plante.
(2 stades)



GRAPHIQUE 24

Nous négligeons pour des raisons pratiques le contenu en vitamine B₁ de la tige et de la racine. Les problèmes que pose le transport de la vitamine doivent être résolus pour eux-mêmes.

Bien que la concentration en vitamine baisse du bourgeon aux feuilles en décomposition, la quantité totale dans les feuilles ne suit pas cette règle. Rapportée au poids sec total, elle donne pour des plantes normalement développées les valeurs suivantes :

1er exemple

Paire	Contenu total en B ₁ de la feuille en γ
1	—
2	3,16
3	4,46
4	6,5
5	7,25
6	13,61

2me exemple

1	—
2	10,91
3	—
4	8,22
5	18,9
6	12,2
7	10,4
8	—
9	—
10	8,7
11	—
12	0,79

TABLEAU 11

Le 1er exemple représente des résultats obtenus avec une plante jeune, la 6me paire de feuilles est vigoureuse, la gradation à partir du bourgeon est bien nette. Le 2me exemple démontre ce qui se passe dans une plante plus âgée où la 10me et la 12me paire de feuilles sont nécrosées.

La floraison.

Dès que les journées s'allongent la plante fleurit. Il y a là un changement physiologique important. On dit que l'épinard «monte» un phénomène de photopériodisme intervient. Les feuilles qui se forment et dans l'aisselle desquelles se trouvent les fleurs sont petites et très serrées. Nous ne savons pas si la vitamine B₁ joue un rôle au cours de cette transformation morphologique. Nous avons dosé l'aneurine dans ces feuilles. La concentration est plus faible que dans les feuilles de la tige.

Inflorescence		feuilles		
Bractées et fleurs		1re paire	2me paire	
7,10	5,79	8,99	7,27	γ B ₁ /g

TABLEAU 12

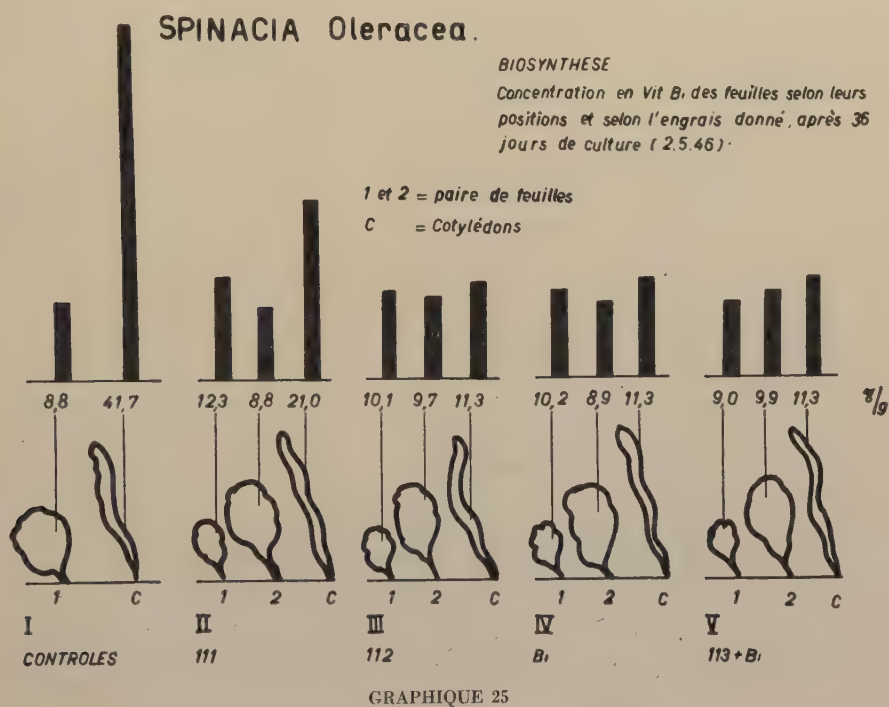
Il se peut que la concentration en aneurine ne soit pas la même pour le sexe ♀ que pour le sexe ♂. Notre plan d'expériences n'a pas été conçu dans le but de résoudre cette question. Les fleurs mal localisées et si nombreuses de l'épinard ne représenteraient pas un matériel favorable (Fig. 10 et 11, page 82).

2. L'influence du milieu sur le métabolisme de l'aneurine.

Nous nous reportons aux pages 75 et 76 en ce qui concerne les substances qui servirent à créer 5 milieux différents avec lesquels nous avons observé le comportement de *Spinacia oleracea*.

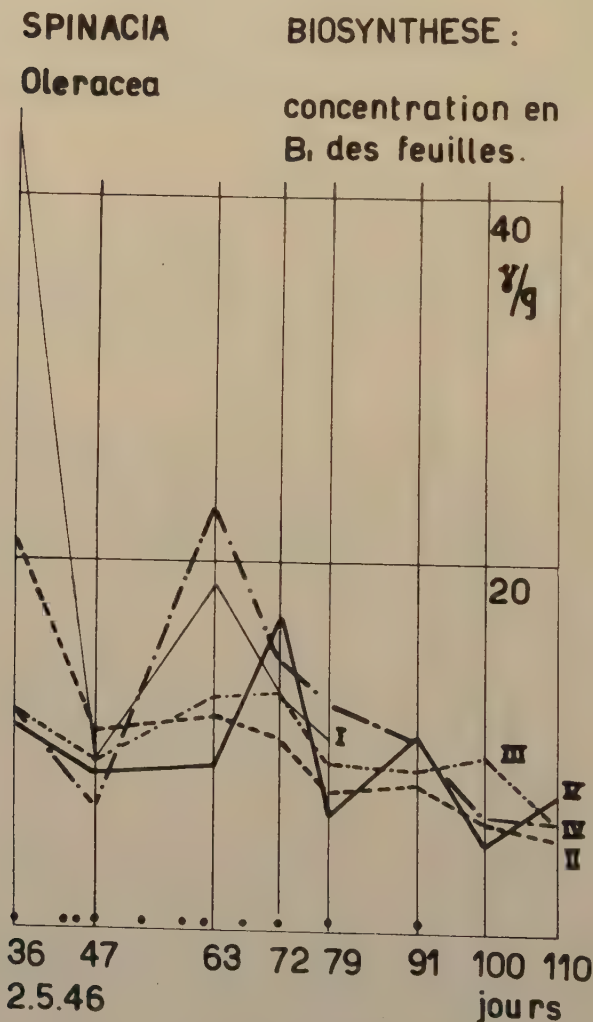
Les premières différences apparaissent après 36 jours de culture. Le graphique 22 représente cette constatation importante.

Nous avons vu que la concentration en vitamine B₁, la plus forte de tout le cycle vital se trouve dans les cotylédons jusqu'au moment où les taux élevés du bourgeon se manifestent. On peut se demander si ce changement s'effectue toujours avec la même rapidité ou si elle subit, selon le terrain où la plante vit, des ralentissements ou des accélérations. *Spinacia oleracea* présente des différences dans le développement selon le milieu offert. Les plantes âgées de 36 jours ont dans les terrains II, III, IV et V une paire de cotylédons et deux paires de feuilles alors que les contrôles (I) n'ont qu'une paire de cotylédons et qu'une paire de feuilles. Les contrôles ont donc un retard sur les plantes ayant reçu des compléments chimiques dans leur milieu (graph. 25).



Nous mettons donc en évidence une particularité physiologique évoluant parallèlement aux différences morphologiques car la concentration en vitamines dans les cotylédons des plantes contrôles est beaucoup plus élevée que dans les plantes des autres séries. Nous avons là un test très sensible qui nous renseigne sur l'état physiologique de *Spinacia oleracea* après 36 jours. Nous avons retrouvé

trois groupes distincts, le 1er comprenant le contrôle (I), le 2me les plantes cultivées avec l'engrais III et le 3me les plantes qui bénéficièrent de l'humotone, de l'aneurine ou de l'engrais enrichi par de l'aneurine synthétique. Les plantes de ce 3me groupe sont au stade intermédiaire ; c'est-à-dire celui où l'on voit que les cotylédons ont une concentration en aneurine égale ou inférieure à celle du bourgeon (voir graph. 25 et 26).



GRAPHIQUE 26

La concentration en vitamine B₁ des feuilles.

Nous comprenons par concentration en vitamine B₁ la quantité d'aneurine présente dans 1 g de matériel sec.

Nous avons enregistré les variations de la concentration en aneurine de la plante pendant le développement. Comme pour la croissance nous retrouvons une influence du milieu (voir graph. 27).

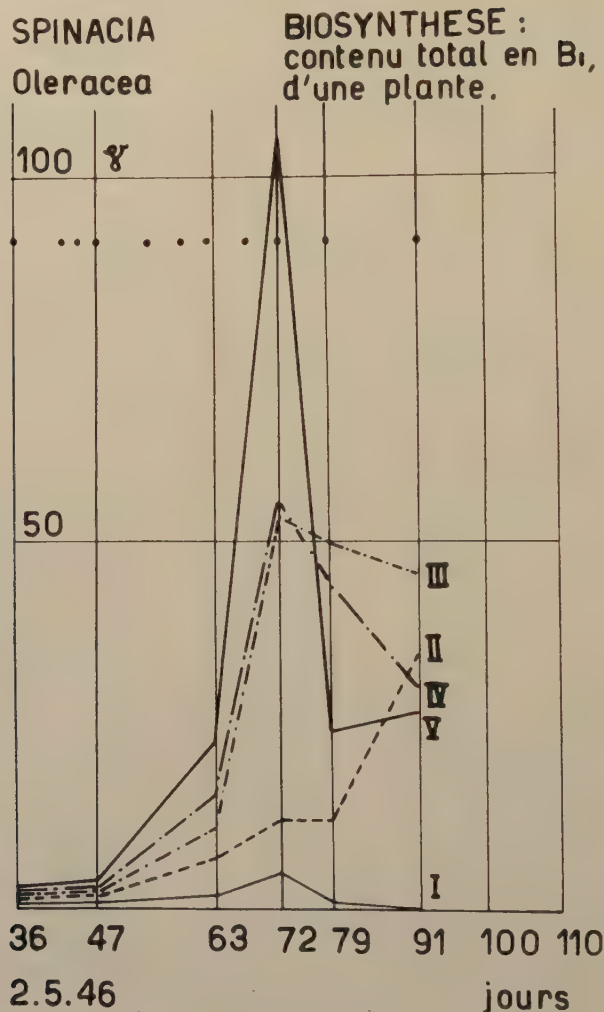
L'état des plantes après 36 jours de culture a déjà été décrit. Ce qui frappe dans les graphiques c'est la régularité et la similitude des courbes II et III. Après un sommet très bas, nous enregistrons une faible chute. Dès le 79^{me} jour le taux continue à baisser. Les courbes I, IV et V ont une tout autre allure, toutes trois présentent soit au 63^{me} ou au 72^{me} jour des maxima prononcés. Nous pensons pouvoir conclure à une accumulation de la vitamine disponible du sol car les courbes IV et V correspondent aux terrains contenant de l'aneurine synthétique.

La courbe I, elle aussi, présente un maximum. Ici les épinards chétifs poussant dans un sol maigre ont végété et ne sont pas arrivés à un épanouissement complet. Les jardiniers savent que les plants d'épinards mal nourris montent vite en graine bien que la masse totale de la plante soit faible. Nous devons donc admettre que ces plantes malingres qui doivent arriver à maturité, ont tout de même trouvé dans un sol maigre, l'aneurine suffisante pour élever la concentration à laquelle elles parviennent grâce à leur propre synthèse. Cette concentration plus haute dans les plantes mal nourries a déjà été signalée pour la vitamine C. Nous pensons que la croissance se fait de façon moins continue et que la plante accumule plus intensément avant d'assimiler et de croître.

Les engrais 111 et 112 par contre agissent plus régulièrement et de façon moins brusque que dans les cultures où la plante reçoit de l'aneurine par arrosage ou par l'engrais 113 provoquant une croissance extraordinaire indiquée dans les courbes du poids sec total de la récolte (graphique 21).

L'apparition plus rapide du point optimal pour I s'explique lorsque l'on sait que seules quelques rares plantes contrôles (I) fleurissent et que cette floraison a lieu plus rapidement que dans les autres plates-bandes. Toute la période de croissance est donc raccourcie. Pour IV nous savons que la forte croissance enregistrée est due à un simple arrosage avec de l'eau vitaminée.

Le contenu total en aneurine d'une plante.



GRAPHIQUE 27

Il serait erroné de n'attacher d'importance qu'à la concentration en vitamine des feuilles. Nous devons bien au contraire chercher à connaître à combien s'élève le taux en vitamine de toute une plante. Ayant analysé les feuilles selon leur position sur la tige, et connaissant leur poids sec nous pouvons calculer avec exactitude ce que la plante contient au moment de la récolte. D'une manière générale les graphiques prouvent que plus la plante est haute et lourde plus la quantité totale en vitamines est élevée. L'accumulation et la synthèse de la vitamine a donc continué pendant la

croissance. Dans notre travail, la période la plus intéressante se trouve délimitée par deux événements caractéristiques du cycle vital de la plante. Ce sont la germination et la floraison. Chacun de ces stades bien définis pour toutes les plantes représente un âge physiologique identique. La germination débute dans nos 5 plates-bandes au moment où la graine est semée et la floraison intervient à la même date à l'exception des contrôles (I). Le poids et le nombre des feuilles récoltées n'étant pas le même, il y a eu une assimilation plus ou moins intensive. L'accroissement pondéral de la plante ne va pas sans augmentation de la quantité totale en aneurine. Nos analyses le prouvent. Cette vitamine a dû être synthétisée et accumulée par la plante.

Les graphiques (26, 27) démontrent que la concentration de chaque feuille en particulier n'est pas le facteur le plus important lorsqu'on étudie le métabolisme de la vitamine mais il faut aussi établir un bilan total. Les variations enregistrées sont alors énormes.

L'influence du milieu sur les graines.

Les graines récoltées dans nos cultures ont été analysées quant à leur contenu en aneurine. C'est la phase ultime du cycle vital permettant éventuellement de retrouver encore une influence du milieu. La récolte a été faite sur des plantes choisies dans chaque plate-bande. Les graines ont été protégées sur la plante. Les résultats des analyses sont présentés dans le tableau 15.

I	II	III	IV	V	
7,99	6,29	7,38	7,03	7,0	γ B ₁ /g

TABLEAU 13

Nous rappelons à cette occasion que nos graines initiales contenaient 3,02 γ B₁/g. Ce taux est plus bas que celui des graines récoltées. Les graines prélevées dans les plates-bandes n'étaient pas en état de vie latente.

Le terrain ne semble pas avoir influencé bien fortement le contenu en aneurine des graines. Seul le traitement II fournit des graines ayant un contenu plus faible dépassant l'erreur moyenne. Il fallait aussi analyser des graines provenant d'espèces voisines ayant été cultivées dans des terrains certainement dissemblables. Pour ce faire, nous avons examiné des graines provenant de différentes sources.

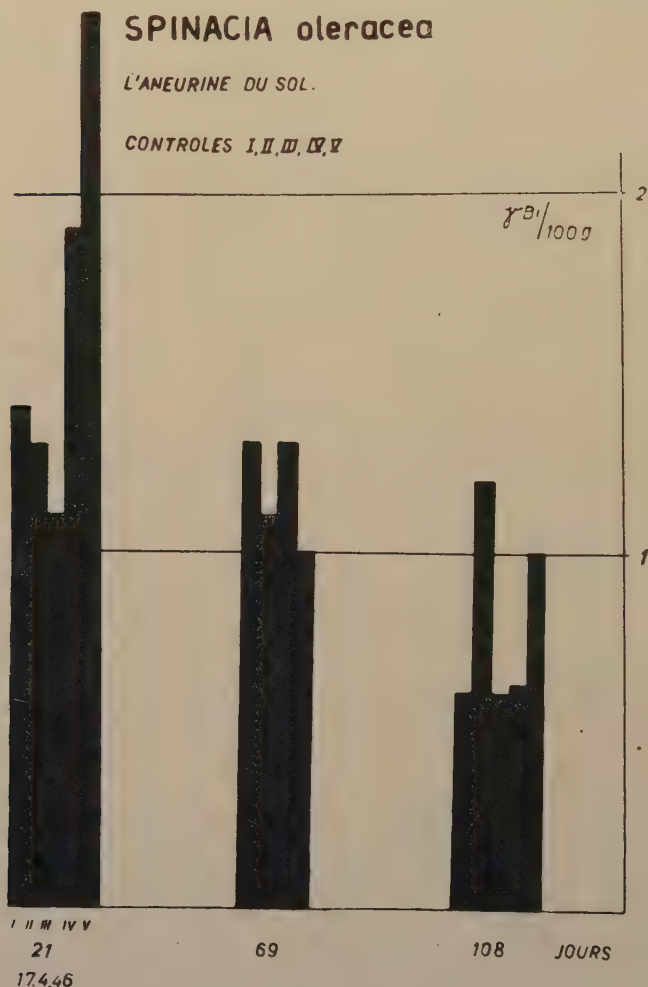
1	Wikings 1946	3,02	γ B ₁ /g
	Wikings 1947	3,05	
	Riesennobel 1947	3,02	
	Riesenskimo 1947	2,73	
2	Juliania	3,10	
	Nobel	2,71	
	Wikings (Sommer)	2,53	
	Wikings (Winter)	2,94	

TABLEAU 14

Les différences observées sont minimales, la concentration la plus haute étant 3,10 et la plus basse 2,53 γ B₁/g. Nous ne croyons pas que le contenu en aneurine des graines soit influencé de façon frappante par le terrain ou par la sorte choisie. Il est probable que dans les graines sèches âgées d'un an, en état de vie latente, une partie de l'aneurine est ou bien détruite ou bien masquée. Elle est inaccessible au micro-organisme test ; ce n'est pas le cas pour les graines fraîches.

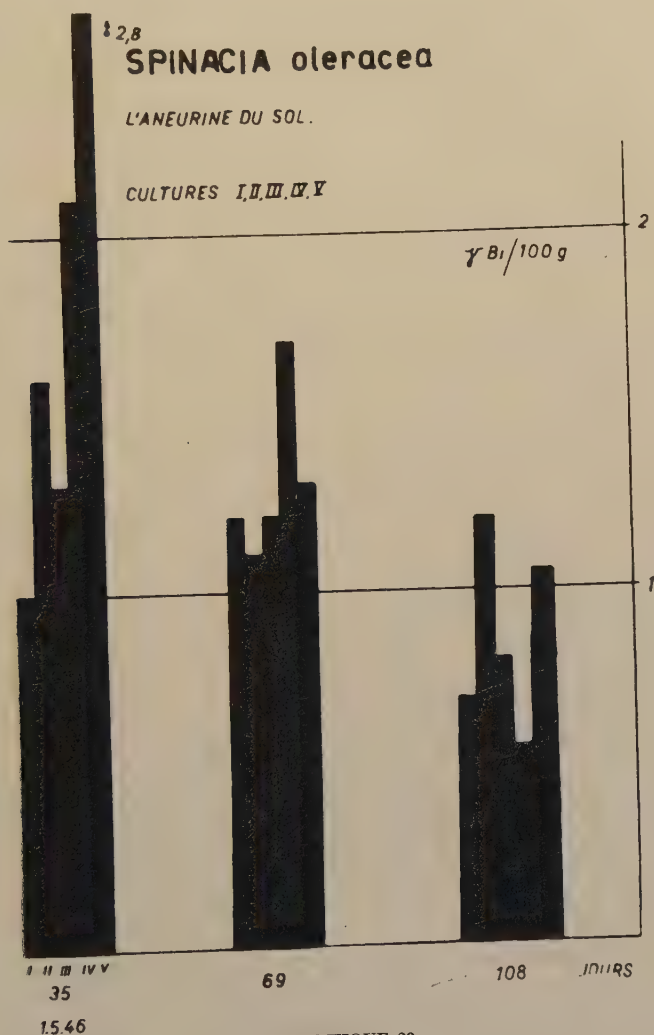
VI. L'aneurine du sol sur lequel *Spinacia oleracea* a été cultivé.

Plusieurs travaux ont démontré que les terres brutes contiennent des facteurs de croissance. En complément de nos recherches,



GRAPHIQUE 28

nous avons prélevé des échantillons de terre dans les cinq plates-bandes ayant été traitées, pendant la période de croissance de l'épinard. Nous pouvons comparer les résultats obtenus avec des terres traitées de la même façon mais où nous avons régulièrement éliminé toute végétation. Ces plates-bandes contrôle dont nous n'avons pas encore parlé portent naturellement les mêmes numéros I, II, III, IV et V que les terres cultivées. Elles ont reçu les mêmes engrais. Les 17. 4. 46, 1. 5. 46, 4. 6. 46, 13. 7. 46 et



5. 9. 46, nous avons mis en réserve $\frac{3}{4}$ de litre de terre provenant des plates-bandes cultivées et des plates-bandes contrôle. Ces échantillons furent séchés, stérilisés et gardés en réserve. Seuls les prélèvements des 17. 4. 46, 1. 5. 46, 4. 6. 46 et 13. 7. 46 furent analysés. Le graphique 28 représente les résultats d'analyses faites avec les contrôles et le graphique 29 ceux fournis par les terres ensemencées. Il est bien entendu impossible, de donner un bilan exact en rapport avec les plantes. Seules les cultures en milieu aqueux permettraient de faire des analyses suffisamment précises. Par contre, nous démontrons qu'on retrouve dans le sol la vitamine donnée avec les engrais et les arrosages. Cette vitamine disparaît au cours du temps aussi bien dans les plates-bandes cultivées que dans les plates-bandes contrôle sans végétation. Dans les premières elle est absorbée par la plante, dans les secondes, elle disparaît par lavage ou est utilisée par les micro-organismes. Nous voyons donc que la vitamine ajoutée au sol doit être donnée sous forme assimilable mais il est bon d'ajouter un support colloïdal bien adapté qui retient le plus longtemps possible dans la rhizosphère, la substance hydrosoluble. L'humotine représente une source de vitamines idéale. Les doses absolues d'aneurine sont peut-être un peu faibles mais elles restent longtemps à disposition du végétal car cette vitamine est accompagnée par des substances absorbantes. C'est la vitamine donnée par arrosage qui disparaît le plus rapidement de la couche supérieure.

Les engrais inorganiques ont une influence marquée, visible après 35 jours environ. Nous observons pour II que le contenu en aneurine du sol est influencé positivement et que ce taux élevé subsiste encore après 108 jours ; nous attribuons cette augmentation au développement intensifié des colonies de micro-organismes du sol qui sont mieux nourris. Cette vitamine n'est pas disponible tant que l'organisme qui la synthétise est vivant. Nous admettons que seule l'extraction de la poudre de terre par autoclavage a pu la libérer et la rendre accessible au test. Ce raisonnement est appuyé d'un argument valable. Le taux en aneurine pour le traitement II est stationnaire après 108 jours, que ce soit dans les contrôles ou dans les cultures. Il n'y a pas eu de migrations ou de disparitions mesurables. Bien au contraire, nous retrouvons plus d'aneurine que dans le contrôle (I). Ce résultat est complémentaire des phénomènes décrits dans le chapitre II. Le fumier de ferme avait augmenté la teneur en vitamines du sol. L'engrais inorganique entraîne lui aussi une hausse. Elle n'est pas due uniquement à la diffusion de facteurs déjà présents mais à l'effet nutritif de l'engrais sur la flore et la faune du sol. Ces facteurs de croissance ne sont pas actifs sur les végétaux verts avant d'être libérés. Malgré leur quantité suffisante, d'après le test microbiologique, la quantité disponible pour *Spinacia oleracea* fut trop faible pour entraîner un synergisme avec l'engrais inorganique (engrais 111) administré.

CONCLUSION

Nous avons adopté un plan d'expérience permettant de contrôler l'action de la fraction organique des engrais. Cette fraction est caractérisée par son contenu en aneurine et en biotine.

Nous avons mis au point une technique permettant de faire l'analyse quantitative de ces vitamines dans des extraits de terre. Le métabolisme des vitamines a été étudié chez *Spinacia oleracea* et chez *Solanum lycopersicum*. Ces deux plantes ont été cultivées dans cinq conditions différentes. Nous avons donc créé cinq terrains en utilisant des engrais de la maison « Les Fils d'Ed. Geistlich, Wolhusen ». L'analyse de l'aneurine a été faite avec le test microbiologique de SCHOPFER (*Phycomyces*) ; celle de la biotine avec le test microbiologique de SNELL (*Saccharomyces cerevisiae*).

Résultats : On peut parler d'un métabolisme des vitamines dans le sol. Les engrais organiques augmentent le contenu en vitamines du sol. Des solutions de *Cibazol* (sel de sodium du sulfanilamide, Ciba-Bâle) provoquent une chute dans les taux en vitamines du sol. Une dépendance de la saison a pu être démontrée.

Des sols de provenances diverses contiennent des quantités diverses de vitamines.

Les sols riches en humus ou en déchets organiques ont un taux en vitamines plus élevé que les sols d'autres provenances.

Les engrais organiques ou des arrosages avec de l'eau contenant de l'aneurine synthétique (Benerva pour horticulture — Hoffmann La Roche, Bâle) ont, en complément des sels minéraux, une action très forte sur *Spinacia oleracea* ; *Solanum lycopersicum* ne réagit à ces traitements qu'au début de la croissance.

L'humotine est la source organique idéale, la nature colloïdale des éléments empêche une diffusion trop rapide des substances actives.

Zusammenfassung.

Wir stellen einen Versuchsplan auf, der es ermöglicht die Wirkung der organischen Fraktion der Dünger zu prüfen. Wir charakterisieren diese organischen Bestandteile durch ihren Gehalt an Aneurin und Biotin.

Es wird ebenfalls eine Technik ausgearbeitet, die es ermöglicht aus Bodenextrakten eine quantitative Analyse dieser Vitamine durchzuführen. Ferner wurde auch der Vitaminstoffwechsel von *Spinacia oleracea* und *Solanum lycopersicum* untersucht. Diese zwei Pflanzen wurden unter fünf verschiedenen Düngungsverhältnissen gezüchtet. Es wurden also fünf verschiedene Böden geschaffen und untersucht. (Wir verwendeten Dünger der Firma Ed. Geistlich, Wolhusen).

Alle Analysen auf Aneurin (Vitamin B₁) wurden mit dem microbiologischen Test nach Schopfer gemacht (*Phycomyces*); diejenigen auf Biotin (Vitamin H) mit dem microbiologischen Test nach Snell (*Saccharomyces cerevisiae*).

Resultate: Es ist möglich von einem Vitaminmetabolismus im Boden zu sprechen. Dünger organischer Natur erhöhen den Gehalt an Vitaminen des Bodens. *Cibazollösungen* (Sulfanilamidonatronat-Ciba-Basel) bedingen ein Sinken des Vitamingehaltes im Boden. Es ist ferner eine Abhängigkeit von der Jahreszeit festzustellen. Böden verschiedener Herkunft weisen verschiedene Quantitäten an Vitaminen auf. Alle Böden die reichlich Humus oder organische Reste enthalten, haben einen höheren Vitamingehalt als andere Böden. Die organische Düngung oder Aneurinhaltiges Giesswasser (Benerva für Hortikultur, Hoffmann La Roche - Basel) in Verbindung mit Salzen wirken besonders stark auf *Spinacia oleracea*. *Solanum lycopersicum* reagiert nur als Jungpflanze auf diese Behandlungen. Humotin ist eine ideale Quelle für organische Bestandteile die, dank der kolloidalen Natur seiner Elemente, ein zu rasches Diffundieren unmöglich macht.

Riassunto.

Presentiamo un piano di esperimenti che ci permette di controllare l'azione della frazione organica dei concimi. Caratterizziamo questi elementi organici secondo il loro contenuto in aneurina e in biotina.

Abbiamo elaborato una tecnica che ci permette di procedere all'analisi quantitativa di queste vitamine, basandoci su estratti del terreno. Abbiamo anche studiato il metabolismo delle vitamine nella *Spinacia oleracea* e nel *Solanum lycopersicum*. Queste due piante sono state coltivate in cinque condizioni diverse di concimazione. Abbiamo così creato e esaminato cinque terreni diversi. (Adoperiamo concimi della Soc. Ed. Geistlich di Wolhusen).

Tutte le analisi dell'aneurina sono state eseguite con il test microbiologico di Schopfer (*Phycomyces*); quelle della biotina

(vitamine H) con il test microbiologico di Snell (*Saccharomyces cerevisiae*).

Conclusioni : E' possibile parlare di metabolismo delle vitamine nel terreno, Concimi di natura organica aumentano il contenuto del terreno in vitamine. *Soluzioni di Cibazol* (Sulfanilamidonatronal, Ciba, Basilea) producono nel terreno una diminuzione del contenuto in vitamine. Si puo anche concludere a una certa dipendenza dalla stagione. Terreni di origine differente presentano quantità diverse di vitamine. Tutti i terreni che contengono humus e resti organici in quantità abbondante sono più ricchi in vitamine degli altri. La concimazione organica o l'irrigazione con acqua contenente aneurina (Benerva per l'orticoltura, Hoffmann La Roche, Basilea) combinata con sali, agiscono particolarmente forte sulla *Spinacia oleracea*. Solo la pianta giovane del *Solanum lycopersicum* reagisce a questo trattamento. L'« Humotin » è una fonte ideale di elementi organici e per la natura colloidale dei suoi componenti rende impossibile una diffusione troppo rapida.

Conclusion

We have drawn up a plan of experimentation which has enabled us to investigate the effect of the organic fraction of fertilizers. We have characterized these organic ingredients by their aneurin and biotin contents.

A technique enabling us to perform a quantitative analysis of these vitamins from soil-extracts has also been elaborated. Furthermore, the vitamin-metabolism of the *Spinacia oleracea* and of the *Solanum lycopersicum* has been investigated. These two plants were grown in 5 different kinds of fertilizing substance. Five different types of soil were therefore produced and investigated. (We employed fertilizers prepared by Messrs. Ed. Geistlich, Wolhusen). Schopfer's micro-biological test (*Phycomyces*) was employed for all the analyses for aneurin (Vitamin B₁), Snell's micro-biological test (*Saccharomyces cerevisiae*) for those for biotin (Vitamin H).

Results : It is possible to speak of a vitamin-metabolism in the soil. Fertilizers of an organic nature increase the vitamin contents of the soil. *Cibazol solutions* (Sulfanilamidonatronat - Ciba - Basel) cause a decrease in the vitamin contents of the soil. Furthermore, a dependence on the seasonal variations was established. Soils of different origin display different amounts of vitamins. All soils that contain abundant humus or organic residue have a higher vitamin contents than other soils.

Organic fertilizing or watering with a liquid containing aneurin (Benerva for horticulture, Hoffmann La Roche, Basel) in combination with salts has a particularly marked effect on *Spinacia oleracea*. *Solanum lycopersicum* reacts to this treatment only when the plants are young. « Humotin » is an ideal source of organic compounds, owing to the colloidal nature of its elements, it renders a too rapid diffusion impossible.

Ce travail a été exécuté à l'Institut et au Jardin botanique de l'Université, de 1945 à 1949, à la suggestion et sous la direction de M. le Professeur W. H. Schopfer. Qu'il me soit permis de remercier mon maître de ses conseils et de l'intérêt qu'il a constamment porté à mon travail. J'ai bénéficié d'un grand dévouement et je me souviendrai avec plaisir des moments passés à ces recherches.

Ma reconnaissance s'adresse aussi à la Direction des Etablissements Les Fils d'Ed. Geistlich, Wolhusen, dont l'appui a considérablement facilité ce travail.

Je remercie Mesdemoiselles Suzy Schmid et Ursula Büttler, laborantines, pour leur collaboration intelligente et dévouée.

Ma gratitude est acquise à M. Nyffeler, jardinier au Jardin botanique de l'Université, pour les soins compétents qu'il a donnés à mes cultures en pleine terre.

Curriculum vitae de Maurice-André Roulet

Je suis né le 9 novembre 1920 à Yverdon de Maurice-Louis et de Nelly-Mathilde née Dumont. Je suis originaire de Mauborget (Vaud), Suisse.

J'ai suivi les classes primaires à l'école communale d'Yverdon. Dès 1932 j'ai fréquenté les classes de progymnase et de gymnase du Gymnase Libre, à Berne. J'ai obtenu en juin 1941, dans cet établissement, le certificat de maturité type C (anglais).

Immatriculé en octobre 1941 à la Faculté des sciences de l'Université de Berne, j'ai suivi les cours de Messieurs les Professeurs Schopfer, Feitknecht, Signer et von Muralt pour me présenter à l'examen de doctorat, avec comme branche principale la botanique et comme branches accessoires la chimie et la physiologie humaine. Depuis le semestre d'hiver 1944-1945, je suis assistant à l'Institut botanique de l'Université.

TABLE DES MATIERES

PREMIERE PARTIE

Bref exposé sur l'histoire de nos connaissances relatives à la nutrition de la plante	7
1. Les Anciens	7
2. L'Iatrochimie	7
3. La Révolution chimique	8
4. La Période moderne	8
5. Les Problèmes	11
a) Les constituants inorganiques du sol	11
b) Les constituants organiques du sol	12
c) Le milieu physique	13
d) Le milieu vital	14
e) Les bilans	14
f) La fonction de la racine	16
g) Autotrophie et hétérotrophie	17
h) Auxo-autotrophie et auxo-hétérotrophie	19
Documentation iconographique	24
1. Les méthodes de culture	24
2. Les analyses chimiques	36
Littérature du chapitre 5	40

DEUXIEME PARTIE

Recherches personnelles sur les vitamines du sol et leur importance pour les plantes	45
I. <i>Introduction</i>	45
Littérature	51
II. <i>Les techniques</i>	52
1. Les tests	52
2. Les extraits de terre	55

3. Extraction et dosage de l'aneurine des feuilles de l'épinard	58
4. Précision des méthodes	59
Littérature	60
III. <i>Les vitamines du sol</i>	61
1. La répartition dans le sol de la biotine et de l'aneurine selon la profondeur	61
2. Etude systématique des sols	63
3. La répartition qualitative et quantitative des facteurs de croissance dans le sol	65
4. Les influences externes sur la concentration en vitamines du sol	65
Littérature	72
IV. <i>L'influence des facteurs de croissance et des engrais sur la plante supérieure</i>	72
1. Plan de travail	73
2. Action sur la morphologie de <i>Spinacia oleracea</i> . Observations générales concernant les plantes récoltées	78
3. Action des divers traitements sur la morphologie de <i>Solanum lycopersicum</i>	94
Littérature	97
V. <i>Le métabolisme de l'aneurine chez Spinacia oleracea cultivé dans des milieux différents</i>	97
1. Observations générales	97
2. L'influence du milieu sur le métabolisme de l'aneurine	100
VI. <i>L'aneurine du sol sur lequel Spinacia oleracea a été cultivé</i>	106
Conclusion	109
Zusammenfassung	110
Riassunto	110
Conclusion	111

